

**MTA DOKTORI ÉRTEKEZÉS**

**HAEMORHEOLOGIAI VIZSGÁLATOK  
A KÍSÉRLETES SEBÉSZETI ÉS MIKROSEBÉSZETI KUTATÁSOK  
SZOLGÁLATÁBAN**

**Dr. Németh Norbert**



**Debreceni Egyetem  
Általános Orvostudományi Kar  
Sebészeti Intézet, Sebészeti Műtéttani Tanszék**

**2016**

## TARTALOMJEGYZÉK

Gyakoribb rövidítések jegyzéke .....	3
1. BEVEZETÉS .....	4
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS .....	5
2.1. A haemorheologia fogalma, rövid történeti áttekintése .....	5
2.2. Fizikai alapok áttekintése .....	8
2.3. A haemorheologiai paraméterek .....	12
2.3.1. Vér viszkozitás .....	12
2.3.2. Plazma viszkozitás .....	14
2.3.3. Vörösvérsejt deformabilitás .....	15
2.3.4. Vörösvérsejt aggregatio .....	18
2.4. A microcirculatio haemorheologiai vonatkozásai .....	21
2.5. Pathophysiologiai jelentőség – ischaemia-reperfusio .....	23
2.6. Kihívások a kísérletes sebészeti kutatások során .....	27
3. A KUTATÁSOK CÉLKITŰZÉSEI .....	29
4. AZ ALKALMAZOTT MÓDSZEREK .....	31
4.1. Haemorheologiai módszerek .....	31
4.1.1. Kapilláris viszkozimetria .....	31
4.1.2. Filtrometria .....	33
4.1.3. Hagyományos és ozmotikus gradiens ektacytometria .....	34
4.1.4. Vörösvérsejt membrán (mechanikus) stabilitási teszt .....	38
4.1.5. Fénytranszmissziós aggregometria .....	38
4.1.6. Syllectometrián alapuló aggregometria .....	39
4.2. Haematologiai, haemostaseologiai és egyéb laboratóriumi vizsgálatok .....	40
4.3. Hemodinamikai és mikrokeringési vizsgálatok .....	41
5. HAEMORHEOLOGIAI MÓDSZERTANI ÖSSZEHASONLÍTÓ VIZSGÁLATOK, MÉRÉSTECHNIKAI STANDARDIZÁCIÓ .....	42
5.1. A vérvétel helyének jelentősége (arterio-venosus és aorto-porto-cavalis különbségek) ..	42
5.2. Az anticoagulansok hatása a micro-rheologiai paraméterekre .....	47
5.3. A tárolási idő és hőmérséklet eltérő hatása különböző állatfajok vérmintáin .....	49
5.4. A centrifugálás eltérő hatása különböző állatfajok vérmintáin .....	54
5.5. Filtrometria: sejtméret-pórusméret arány befolyásoló hatása .....	58
5.6. Ektacytometria: a szuszpendáló közeg viszkozitásának hatása .....	61
5.7. Új adatelemzési és interpretálási módszer az ozmotikus gradiens ektacytometria mérésekhez .....	63

6. FAJI- ÉS NEMI HAEMORHEOLOGIAI KÜLÖNBSÉGEK VIZSGÁLATA .....	70
6.1. Fajok közti haemorheologiai eltérések és hasonlóságok.....	70
6.2. Laboratóriumi állatfajok haemorheologiai nemi különbségei .....	81
6.2.1. Alapkülönbségek.....	81
6.2.2. A gonadectomia hatása.....	85
7. AZ ISCHAEMIA-REPERFUSIO HAEMORHEOLOGIAI ÉS MICROCIRCULATIÓS VONATKOZÁSAI .....	90
7.1. Szisztémás és lokális haemorheologiai változások vizsgálata .....	90
7.1.1. Végtagi ischaemia-reperfusio haemorheologiai hatásának nemi különbségei és gonadectomia után kimutatható eltérései .....	90
7.1.2. Latissimus dorsi izomlebeny ischaemia-reperfusio haemorheologiai hatásai .....	95
7.1.3. Vékonybél ischaemia-reperfusio micro-rheologiai hatásai.....	98
7.1.4. Supra- és infrarenalis aorta leszorítás hatása.....	100
7.1.5. Here ischaemia-reperfusio.....	104
7.1.6. Cerebralis hypoperfusio .....	108
7.2. Vascularis beavatkozások haemorheologiai hatásainak vizsgálatai.....	111
7.2.1. Művi arterio-venosus shunt jelenléte .....	111
7.2.2. Vascularis graft jelenléte.....	114
8. MEGBESZÉLÉS.....	119
10. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK, GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁG .....	124
11. Irodalomjegyzék.....	128
11.1. Hivatkozott közlemények.....	128
11.2. Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények.....	144
11.3. Az értekezésben nem szereplő saját közlemények.....	147
11.4. Összefoglaló scientometriai adatok.....	154
12. Köszönetnyilvánítás .....	156
13. Addendum - Gondolatok a haemorheologia interdiszciplináris vonatkozásairól .....	157

**Gyakoribb rövidítések jegyzéke**

AI	aggregációs index
BFU	blood flux unit
EI	elongációs index
Fbg	fibrinogén koncentráció
Fvs	fehérvérsejt
GoE	gonadectomy
Hgb	haemoglobin
Htc	haematocrit
I/R	ischaemia-reperfusio
MCH	átlagos corpuscularis haemoglobin tartalom (mean corpuscular hemoglobin)
MCHC	átlagos corpuscularis haemoglobin koncentráció (mean corpuscular hemoglobin concentration)
MCV	átlagos corpuscularis térfogat (mean corpuscular volume)
O	ozmolalitás
PV	plazma viszkozitás
SS	nyírófeszültség (shear stress)
Thr	thrombocyt
TVV	teljes vér viszkozitás
Vvs	vörösvérsejt
XD	xantin-dehidrogenáz
XO	xantin-oxidáz

*„Vérnek az a' veres, sükeres, és meleg nedveség neveztetik, melly a' szívben, életerekben, és vérerekben folydagol. Vértörzésnek az az éltető munka neveztetik, melly által a' vérnek a' szíven, életereken, és vérereken szünet nélkül tartó, és megint arra az helyre, a'honnét elment vólt, vissza kerülő folyása gyakoroltatik.”*  
 - Rácz Sámuel: A borbélyi tanításoknak első darabja, Pest, 1794. p. 105.

## 1. BEVEZETÉS

Napjainkra igen terjedelmes tudásanyag gyűlt össze a keringési rendszer anatómiájáról, élettanáról és kórélettanáról. Az erekben keringő vér elválaszthatatlan része a mechanizmusoknak, s bár a fenti idézetben foglaltakhoz képest ma már összehasonlíthatatlanul többet tudhatunk a vérről, mégis az áramlástan, rheológiai tulajdonságok még mindig számos megválaszolatlan kérdést vetnek fel.

A klinikai és alap kutatások során az egyre szélesebb körben végzett haemorheológiai vizsgálatok ellenére a kórfolyamatokban kimutatott eltérések valódi *in vivo* jelentősége a mai napig sem tisztázott pontosan. Megválaszolatlan kérdések vannak az időfaktor, a lokális-szisztémás rheológiai és a szimultán microcirculációs történések vonatkozásában is. Hol van a változások reverzibilitásának-irreverzibilitásának határa? Nem ismertek minden részletében azok a mechanizmusok, amelyek révén az érrendszer különböző szintjein az endothel felszínen kialakuló nyírófeszültség-profil szabályozó jeleket ölt, vagy az érpályán belül az alakos elemek eloszlását, adott esetben endothelium felé való sodródását alakítják. Nem teljes mértékben tisztázott még, hogy a különböző sebészeti beavatkozások miatt –szükségszerűen– megváltozott érgeometria és áramlási tulajdonságok mikor érnek el olyan mértéket, amely már thromboticus szövődmény kialakulásához vezethet. A megelőzési és terápiás lehetőségek továbbra is részletesebb elemzésre várnak. További kérdéskör a különböző, szükségeszerű sebészeti beavatkozások hatása: érleszorítás-felengedés, érvarratok behelyezése vagy érprothesisek beültetése. Nem teljesen tisztázottak mindezek haemorheológiai és mikrokeringési hatásai, s nem ismert pontosan a beavatkozások additív jellege sem. A változások mértékének és *in vivo* jelentőségének részletesebb vizsgálata közelebb vihet a célzott haemorheológiai terápiás lehetőségek kidolgozásához is, amelyre sajnos még mindig nincs elegendő meggyőző adat.

Az orvosbiológiai kutatásokban ma még nélkülözhetetlen, de megfelelő indokoltsággal, szigorú szabályok szerint és az állatkíméleti elvek betartásával végzett állatkísérletek során számos kihívással kell szembenézni. A mérés-technikai körülmények meghatározása, a módszertani adaptációs problémák megoldása, az eredmények extrapolálhatóságát, összehasonlíthatóságát is megalapozó mérések elvégzése, a fajspecifikus különbségek feltárása, mind része ennek a munkának.

Tudományos kutatómunkám az elmúlt másfél évtizedben (a PhD disszertáció elkészítése után az elmúlt 12 évben) a haemorheologiai és microcirculációs vizsgálatokra összpontosított, döntően az ischaemia-reperfúziós kísérletes sebészeti kutatások szolgálatában.

## 2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

### 2.1. A haemorheologia fogalma, rövid történeti áttekintése

A haemorheologia a vér sejtes és plazmatikus komponensei makro- és mikroszkópikus dimenziójú áramlástanának, valamint a vérrel kontaktusban lévő érfal rheológiájának összefoglaló megjelölése – így definiálta e tudományt Alfred L. Copley, 1951-ben.<sup>80</sup>

E diszciplína, ami a sebészet számára is igen fontos, sok évszázados gyökerekre vezethető vissza (I. táblázat). A vér és a vérzés, az élet és a halál a keringési rendszer működésével, illetve leállásával való összefüggései az ókor (s talán még régebbi korok) embereit is intenzíven foglalkoztatták. Már az ókori Egyiptomban ismert volt, hogy a szívből erednek a fő erek, a szív a keringés központja. A sérülések vagy éppen orvosi beavatkozások révén adódó vérzés csillapításának lekötéssel (ligatúrával) való megoldása és tűzzel felforrósított eszközökkel való kauterizációja már abban az időben is ismert volt (Edwin Smith papirusz, i.e. ~1700).<sup>79</sup> Mintegy két és félezer éve az ókori Görögországban megfigyelték, hogy a lebocsátott vér alkotóelemei idővel „szétválnak”: felül a „sárga epe” (cholera), ami gyakorlatilag a szérumot jelenti, alatta a mucus (phlegma), amely a leukocytákban és thrombocytákban gazdag „buffy coat”-nak felel meg.<sup>258</sup> Ez alatt rétegződik a vörösvérsejtek tömege által alkotott sanguinis. A legalsó réteg a denz vörösvérsejteket, az összehúzódtott coagulumot és a belezárt vörösvérsejteket tartalmazó réteg, a „fekete epe” (melancholia). Mai értelemben összevetve ezt egy anticoagulált és centrifugált vérminta rétegződésével, jól értelmezhetőek ezek a látványos párhuzamok. Az ókori görög medicinában, Hippocrates (i.e. 460-375) postulatuma szerint, e négy folyadékelem egyensúlya (eukrasia) az egészséget jelentette, egyensúlyzavara (dyskrasia), mennyiségi eltolódásai a betegség okozói vagy kísérőjelei voltak.<sup>281</sup> Az egyensúlyzavar megoldására elsősorban a diéta játszott fontos szerepet, de több más módszer is ismeretes volt, mint a hashajtás, a hánytatás vagy az érvágás. Utóbbi, a vérlebocsátás (veneseccio), mint hypovolemiás haemodilutio, az elmúlt századokig egyik általános eszközt jelentette a klasszikus orvoslás folyadékegyensúly-zavarok megoldását célzó tevékenységeinek, s egyúttal a legősibb haemorheologiai terápiának tekinthető.

A keringési rendszer anatómiája, élettana és kórélettana megismerésének több dogma kialakításával, elvetésével, újabb és újabb felfedezésekkel tarkított története sok századon keresztül húzódozó folyamat volt.

Aristotheles (i.e. 384-322) a szív pumpafunkcióját felismerve azt a keringés mechanikus központjának ismerte el. Praxagoras (i.e. 340) különböztette meg először az artériákat a vénáktól, előbbieket a nézete szerint pneumát, levegőt szállítottak. Erasistratus (i.e. 304-250) tanaiból ismert elképzelés szerint az artériás ág levegővel teli rendszert jelentett. Azt a

paradoxont, hogy az artériák megvágásával vérzés jelenik meg, azzal a magyarázattal oldotta fel, hogy a vénából származó vér láthatatlan összeköttetéseken keresztül kerülhet az artériákba, amikor onnét a levegő kiürül.<sup>1,79</sup>

**I. táblázat:** A haemorheologia történetének főbb mérföldkövei, jelentősebb alakjai és a vonatkozó megfigyelések, felfedezések

Ókor - XVII. század		XVIII. - XX. század	
Ephesos-i Heracleitos (i.e. ? 500-460)	<i>A panta rhei</i> filozófiája.	John Hunter (1728-1793)	A gyulladás kórélettanának elemzése.
Hippocrates (i.e. 460-375)	A négy folyadék elmélet postulatuma.	William Hewson (1739-1774)	A fehérvérsejtek felfedezése.
Aristotheles (i.e. 384-322)	A szív pumpafunkciója.	Isaac Newton (1642-1727)	A klasszikus mechanika és dinamika alaptörvényei.
Calchedon-i Herophilus (i.e. 325-260)	Anatómiai leírások mellett, az érverés objektív számlálásához vízóra használata.	Daniel Bernoulli (1700-1782)	Az áramlási sebesség és a nyomásviszonyok kapcsolatát leíró törvény. Hidrodinamikai alapok.
Chios-i Erasistratus (i.e. 304-250)	Az artériás és vénás rendszer közötti különbségek és a nyíltvégű keringési rendszer (artériákban levegő) leírása.	Jean-Léonard Marie Poiseuille (1799-1869)	A körkeresztmetszetű csőben történő folyadékáramlás körülményeit magában foglaló alapegyenlet leírása.
Claudius Galenus (130-200)	Tizennégy évszázadon át uralkodó dogma a máj-központú keringési rendszerről.	Robin Fåhræus (1888-1968)	A vérsüllyedés vizsgálatának klinikai gyakorlatba való bevezetése Westergen- nel együtt. A kis átmérőjű kapilláris csövekben áramló vér jellegzetességeinek, a látszólagos viszkozitás átmérővel való csökkenés leírása Lindqvist-tel együtt.
William Harvey (1578-1657)	A keringési rendszer korszerű leírása: kis- és nagy vérkör, a keringés központja a szív. A vénás billentyűk jelentősége, arteriás és vénás nyomás közötti különbségek megfigyelése.		
Marcello Malpighi (1628-1694)	A capillarisok tudományos leírása, a benne keringő globulusok első megfigyelése.	Alfred Levin Copley (1910-1992)	A biorheologia és a haemorheologia definiálása, nemzetközi társaság és tudományos folyóirat alapítása, vonatkozó kutatások, klinikai haemorheológiai vizsgálatok szervezése.
Robert Hooke (1635-1703)	A megnyúlási törvény leírása.		
Anthoni van Leeuwenhoek (1632-1723)	A vörösvérsejtek felfedezése és jellegzetességeik első megfigyelése.		

Galenus (130-200) nevéhez fűződik az a dogma, amely szerint nem a szív, hanem a máj a keringés központja (spiritus naturalis – spiritus vitalis – spiritus animalis anyagátalakulás és áramlás). Nézete szerint az artériákban vér és levegő is van, a szívben pórusok, amelyen keresztül áramlik a vér egyik szívfélből a másikba. E több mint 1400 évig uralkodó dogmát William Harvey (1578-1657) 1628-ban Frankfurtban megjelent *„Exercitatio Anatomica de Motu Cordis et Sanguinis in Animalibus”* című művével döntötte meg, definiálva a négyüregű szív –mint a keringés központja– mechanizmusát, a kis és nagy vérkört, a véráramlás irányát, a vénás billentyűk szerepét, megfigyeléseket tett az artériás és a vénás nyomás közötti különbségekre. Az artériás és vénás rendszer közötti folytonossági kapcsolatra azonban nem talált megoldást, összeköttetéseket (anastomosisokat) és a szövetekben lévő pórusokat feltételezett, amelyek a vér számára átjárhatóak. A hajszálereket először Leonardo da Vinci (1452-1519) figyelte meg firenzei titkos boncolásai során, ahogy a „húsban” hajszálra hasonlító ereket látott („vene chapillari”). A capillariskok lényegi felfedezése Marcello Malphigi (1628-1694) nevéhez fűződik 1660-ban, aki mint az artériák és a vénák közötti direkt összeköttetéseként írta le őket. A bennük keringő „globulusokat” zsírcseppeknek vélte.<sup>1,79,258</sup>

A vörösvérsejtek leírása már Anthoni van Leeuwenhoek (1632-1723) nevéhez fűződik. Az általa konstruált, apró nagyítólencsét tartalmazó kézi „mikroszkóp” segítségével sokféle anyagot, testváladékot és vért vizsgált a tudományos megismerés iránt érzett lelkesedésében, bár nem volt „hivatásos tudós”. Megfigyeléseit 1674-ben közölte: „...*I have observed that the blood globules are much more pliable than I thought was ever possible. I have investigated these globules on various occasions and noticed that they can be elongated up to three times their original dimension without any break-up of the vesicles forming their surface. I also noticed that these blood globules, passing by and each other, could adopt many figures, thanks to their pliability, and that they retake their original globosity as soon as they get more room, and it has been an eminent pleasure to be a witness of this!...*” (*Microscopical observations concerning blood, milk, bones, the brain, spittle and cuticula*. Philosophical Transactions, Royal Society, London, 1674, 9, pp. 121-128.). A ma ismert haemorheológiai paraméterek tekintetében szemléletes leírása ez a vörösvérsejtek deformabilitásának és aggregációjának. Leeuwenhoek megfigyelte, hogy lázas, beteg emberből vagy várandóستól származó vérmintában a „globulusok” összecsapzódása kifejezettebb, mint az egészségesek vérében. Leírása szerint a vörösvérsejt nagysága (átmérője) 1/3000 hüvelyk, azaz 8,5  $\mu\text{m}$ .<sup>79,258</sup>

Újabb mérföldkönek számított a skót sebész, John Hunter (1728-1793) munkássága a keringés és gyulladás kórélettana terén (*A Treatise on the Blood, Inflammation and Gunshot Wounds*. London, 1794). Megerősítette, hogy a „vörös corpusculumok” egymáshoz kötődése sokkal nagyobb mértékű gyulladás során. Az ő tanítványa volt William Hewson (1739-1774), akinek nevéhez a fehérvérsejtek felfedezése kötődik 1770-ben. Emellett izolálta a fibrint, funkcionálisan magyarázta a nyirokerek jelenlétét is.<sup>79,281</sup>

A XVII. század második felétől a XIX. századig számos felfedezés, matematikai és fizikai törvény megalkotása is kapcsolódik a rheológia fejlődéséhez (Pascal, Hooke, Newton,



Bernoulli, Poiseuille), amelyeket a következő fejezet érint. A véráramlástan szempontjából a fizikai felfedezések után jelentős mérföldkő volt Robert (Robin) Sanno Fåhræus (1888-1968) svéd patológus, haematologus munkássága. Leeuwenhoek és Hunter megfigyeléseit folytatva az vérsüllyedés vizsgálatának jelentőségét mutatta meg, Alf Vilhelm Westergren-nel (1891-1968) együtt bevezetve ezt a módszert a klinikai gyakorlatba 1921-ben. Az erythrocyta sedimentációs ráta (ESR) módszerét néhány évtizeddel korábban a lengyel orvos, Edmund Faustyn Biernacki (1866-1911) 1897-ben alkalmazta először.<sup>130</sup> A módszert Fåhræus és Westergren publikációi után ismerték el szélesebb körben. Fåhræus másik fontos hozzájárulása a haemorheologia fejlődéséhez a kisátmérőjű üvegkapillárisokban való véráramlási sajátságok megfigyelése volt, amely szerint a vér látszólagos viszkozitása a kapilláris átmérőjével csökken egészen a vörösvérsejtek átmérőjének megfelelő csőátmérőig, majd meredeken nő (Fåhræus-Lindqvist effektus).<sup>104,258</sup> Áramlástanai magyarázatát a következő fejezetek érintik.

A haemorheologia XX. századi fejlődésében fontos tényező volt a szervezett rheológiai kutatások kezdete, amely az amerikai The Society of Rheology 1929-es megalapításának idejére tehető. Az első nemzetközi rheológiai kongresszust 1948-ban tartották. Alfred Levin Copley (1910-1992), amerikai haematologus (L. Alcopley művésznéven absztrakt expresszionista festőművész) a biorheológiát 1948-ban, a haemorheológiát 1951-ben definiálta. 1966-ban megalapította az International Society of Hemorheology-t, amely nevét 1969-ben International Society of Biorheology-ra (ISB) változtatták. Alapító szerkesztője volt a *Biorheology* és a *Clinical Hemorheology* (mai nevén: *Clinical Hemorheology and Microcirculation*) című tudományos folyóiratoknak, amelyek azóta is teret adnak e tudományterület eredményeinek publikálására.

A biorheologia és a haemorheologia máig fejlődő területet jelent, amelyet az ISB mellett számos nemzeti és nemzetközi tudományos társaság is él. A European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation (ESCHM) első kongresszusát a franciaországi Nancy-ben tartotta 1979-ben. Az International Society for Clinical Hemorheology (ISCH) 1993-ban alakult meg az európai társaság 8., bécsi kongresszusán. A Magyar Haemorheológiai Társaság 1993-ban alakult meg Pécsen.

Az 1960-1980 közötti időszak a vér vizsgálatára alkalmas viszkoziméterek megjelenésével és a filtrációs módszerek kifejlesztésével nagy lendületet adott a klinikai és alap kutatásoknak egyaránt. Az utóbbi két évtizedben további felpezsdülés látszik a modern micro-rheológiai mérőműszerek és laboratóriumi technikák kifejlesztése révén.<sup>137</sup>

## 2.2. Fizikai alapok áttekintése

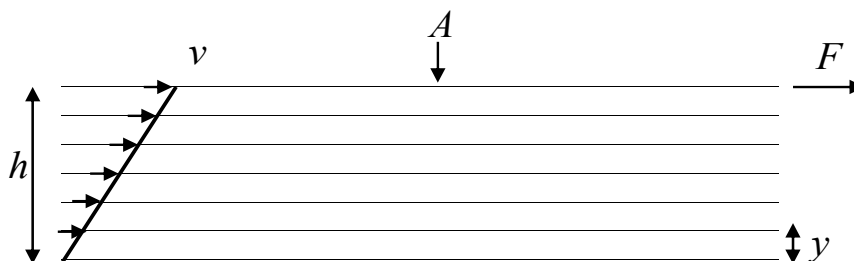
A fizikai tudományok fejlődése fontos kapcsolatot jelent a haemorheologia történetével is. Fizikai megközelítésből a rheologia megértéséhez a kontinuum mechanika, a szilárd test mechanika, a folyadékok mechanikája (áramlástan), a hidrosztatika, a rugalmasság (elaszticitás), képlékenységi (plaszticitás), nem-newtoni és newtoni folyadékok

tulajdonságainak megismerése alapvetően hozzájárult. Hiszen Eugene Cook Bingham (1878-1945), a The Society of Rheology alapítója (1929. december 9.) meghatározása szerint maga a rheologia a különböző anyagok erőhatásra bekövetkező deformálódásával és folyási tulajdonságaival foglalkozó tudományág.

A rheologia tekintetében legjelentősebb felfedezések és törvények közül az elsők közt fontos megemlíteni Blaise Pascal (1623-1662) munkásságából a hidrosztatika alaptörvényét ( $P_2 - P_1 = -\rho g(h_2 - h_1)$ , ahol  $P_2$  és  $P_1$  a folyadékoszlop  $h_2$  és  $h_1$  magasságában lévő nyomása,  $\rho$  a folyadék sűrűsége,  $g$  a nehézségi gyorsulás), és Robert Hooke (1635-1703) megnyúlási törvényét ( $\sigma = E\varepsilon$ , ahol  $\sigma$  a mechanikai feszültség,  $E$  az elasztikus [Young-] modulus,  $\varepsilon$  a fajlagos megnyúlás) az ideálisan rugalmas, ideálisan elasztikus anyagok jellemzésére.

A mechanika alaptörvényeit, mint a tömeggel rendelkező testek mozgását leíró törvényeket (I-IV) és a dinamika alapegyenletét Sir Isaac Newton (1642-1727) írta le a „*Philosophiae Naturalis Principia Mathematica*” című művében (London, 1687) a tér, az idő, a tömeg, a sebesség, a gyorsulás, az impulzus és az erő összefüggéseiben. Newton adta meg a viszkozitás első értelmezését is.

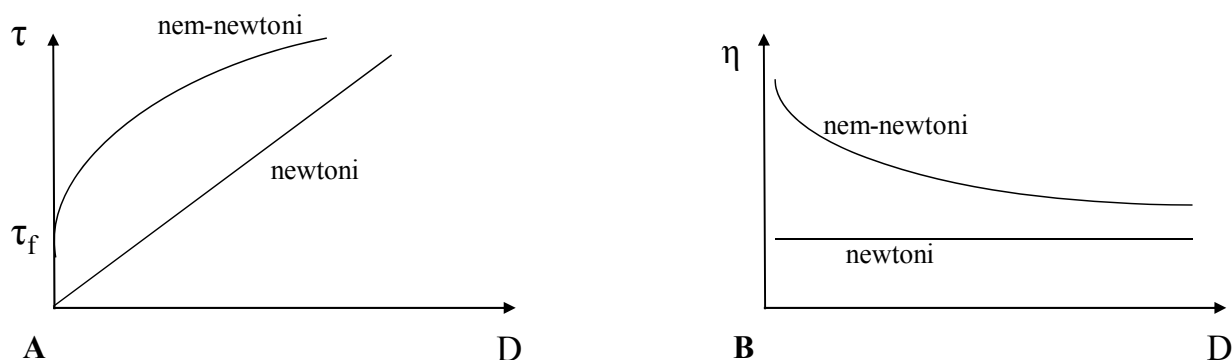
A folyadékok mozgását leíró modellek közül a legelterjedtebb a lamináris, réteges áramlást feltételező modell. E szerint a gázok vagy folyadékok végtelen számú, egymással párhuzamos rétegekkel jellemezhetőek. Az egymástól adott távolságra ( $h$ ,  $y$ ) lévő rétegek adott felületére ( $A$ ) ható tangenciális erő ( $F$ ) egységnyi sebességű ( $v$ ) elmozdulást idéz elő (1. ábra). Ezek alapján értelmezhető a nyírófeszültség ( $\tau = F/A$  [Pa vagy dyn/cm<sup>2</sup>]), a sebesség-gradiens ( $D = \partial v / \partial h$  [s<sup>-1</sup>]) és ezek kapcsolatát adó (dinamikus) viszkozitás ( $\eta = \tau / D$  [mPas vagy cP]).<sup>57,70</sup>



1. ábra

Az egymástól adott távolságra ( $h$ ,  $y$ ) lévő párhuzamos folyadékrétegek  $A$  felszínére ható  $F$  erő hatására való elmozdulásának ( $v$ ) sematikus ábrázolása

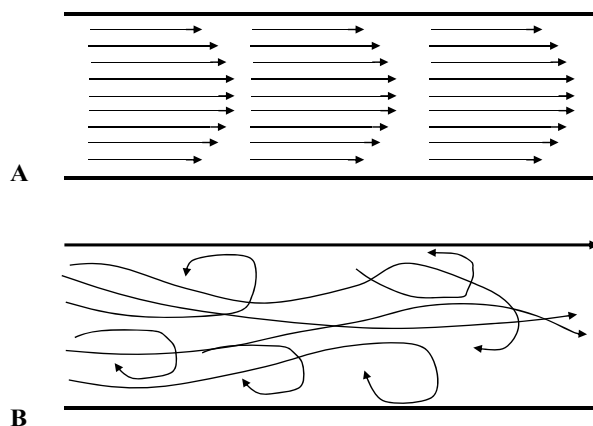
A valódi folyadékok közül newtoninak nevezhető az, amelynél igaz, hogy a nyírófeszültség és a sebesség-gradiens viszonya lineáris, ezáltal a viszkozitás független a sebesség-gradienstől vagy a nyírófeszültségtől. Ilyenek a homogén folyadékok, mint a víz, az olajok, általában az oldatok, a biológiai folyadékok közül például a plazma. Nem-newtoni folyadékok esetén, mint amilyen a vér is,  $\tau$  és  $D$  kapcsolata nem lineáris, a viszkozitás sebesség-gradiens-függő. Emellett szükséges egy adott mértékű erő, amelynek hatására az áramlás egyáltalán megindul. Ezt küszöbfeszültségnek nevezik (2. ábra).



2. ábra

Sematikus ábra a newtoni és nem-newtoni folyadékok nyírófeszültség ( $\tau$ ) – sebesség-gradiens ( $D$ ) (A) és viszkozitás ( $\eta$ ) – sebesség-gradiens kapcsolatának jellemzésére (B).  $\tau_f$  = küszöbfeszültség

Fontos tisztázni a lamináris áramlás fogalmát egyes törvényszerűségek értelmezéséhez. Ha egy merev falú csőben a folyadék rétegesen áramlik, a részecskék mozgási iránya az áramlással párhuzamos (mintha végtelen számú koncentrikus cső mozogna), de a fal-folyadék és a folyadékrétegek közötti súrlódás miatt a különböző rétegek sebessége az áramlás közeghatárához mért távolságtól függően különböző, s legnagyobb az áramlás axisában, lamináris áramlásról beszélünk. Abszolút ellentéte a turbulens áramlás, amely során a rétegek keverednek, áramlási irányukban a káosz mértéke, az entrópia nő (3. ábra).



3. ábra

A lamináris áramlás (parabolikus áramlási sebesség-profil (A) és a turbulenciát is mutató, szabálytalan áramlási profil (B) sematikus ábrázolása.

Az áramlási profil kialakulásához (például egy oldalágba való beömlés pontjától) szükség van időre, azaz az áramlás közben egy bizonyos megtett távolságra. Ez az úgynevezett belépési hossz (entrance length,  $L_e$ ). Osborne Reynolds (1842-1912) 1883-ban megállapította, hogy az áramlási profilban szabálytalanságok, örvények csak egy bizonyos sebesség fölött jönnek létre. Ennek mértéke, a róla elnevezett dimenzió nélküli Reynolds-szám ( $Re$ ) az alábbi egyenlet szerint határozható meg, amelyet már Sir George Gabriel Stokes

(1819-1903) (Navier-Stokes egyenlet) is feltételezett:  $R = \rho v d / \eta$ , ahol  $d$  a cső átmérője,  $v$  az áramlási sebessége,  $\rho$  a folyadék sűrűsége, és  $\eta$  a viszkozitása. A  $Re$  ismeretében az  $L_e$  kiszámítható lamináris áramlásra ( $L_e = 0,06 \times d \times Re$ ), illetve turbulens áramlásra ( $L_e = 0,693 \times d \times Re^{1/4}$ ).<sup>56,57</sup>

A turbulencia kezdete 2100 feletti  $Re$  esetére tehető (tranzicionális áramlás:  $Re \sim 2100-4000$ ), a teljesen kifejlődött turbulens áramlás  $Re > 10^4$  mellett jelentkezik. Valódi turbulencia az érrendszerben fiziológias körülmények között nem tud kialakulni.

Az áramlási sebesség, a nyomásgrádiens, a csőhossz, átmérő és a benne áramló folyadék viszkozitásának összefüggéseit Jean Leonard Marie Poiseuille (1797-1869) fiziológus és orvos által 1846-ban alkotott egyenlet adja meg. Poiseuille-től teljesen függetlenül a német fizikus, Gotthilf Hagen (1797-1884) is megalkotta az egyenletet. Az összefüggés szerint egy csőben a folyadék áramlási sebessége ( $Q$ ) egyenesen arányos a cső két vége között fennálló nyomásgrádienssel ( $\Delta p$ ), a cső sugarának ( $r$ ) negyedik hatványával, és fordítottan arányos a cső hosszával ( $l$ ) és a folyadék viszkozitásával ( $\eta$ ):  $Q = \Delta p r^4 \pi / 8 l \eta$ .<sup>56,70</sup>

A Poiseuille-törvény feltételei: a lamináris áramlás megléte, newtoni folyadék, egyenes, merev falú, cilindrikus és konstans átmetszetű cső.

A folyadékok áramlástanában a kontinuitás egyenlet szerint az áramló folyadékoszlop keresztmetszete ( $A$ ) és áramlási sebességének ( $v$ ) szorzata állandó, azaz szűkebb keresztmetszet esetén az áramlási sebesség növekszik.

Az áramlási sebesség és a nyomásviszonyok összenyomható (gázok) és összenyomhatatlan (folyadékok) közeg esetében fennálló kapcsolatát leíró törvényt Daniel Bernoulli (1700-1782) alkotta meg, és 1738-ban a „*Hydrodynamica sive de viribus et motibus fluidorum commentarii*” című könyvében közölte. Bernoulli törvénye kimondja, hogy egy közeg áramlásakor a sebesség növelése a nyomás csökkenésével jár, azaz egy áramló közegben az áramvonal mentén a különböző energiaösszetevők összege állandó az alábbi egyenletek szerint:

- összenyomhatatlan közeg esetén:  $b = v^2/2 + gh + p/\rho$
- összenyomható közeg esetén:  $b = v^2/2 + \varphi + \omega$

ahol  $b$  konstans, a Bernoulli állandó,  $v$  = közeg sebessége az áramvonal mentén,  $g$  = nehézségi gyorsulás,  $h$  = magasság tetszőleges ponttól a gravitáció irányában,  $p$  = nyomás az áramvonal mentén,  $\rho$  = a közeg sűrűsége,  $\varphi$  = az egységnyi tömegre eső helyzeti energia,  $\varphi = gh$  állandó nehézségi gyorsulás esetén,  $\omega$  = a közeg egységnyi tömegére eső entalpiája.

A keringésben a pulzatilitás hatása is megjelenik az áramlási profil alakításában, egyre gyengülő mértékben a capillarisok irányába. Jellemzésére egy további paraméter, a John R. Womersley (1907-1958) nevéhez fűződő Womersley-szám ( $\alpha$ ) ismert:  $\alpha = R (\omega \rho / \eta)^{1/2}$ , ahol  $R$  a rádiusz,  $\omega$  a szívfrekvencia,  $\rho$  a vér denzitása,  $\eta$  a vér viszkozitása. A Womersley-szám az aorta szakaszain  $\sim 14$  (aorta ascendens) és  $\sim 8$  (aorta abdominalis) között változik, a terminális artériáknál 1-hez közelít. Az arteriolában, capillarisokban és a venulákban jellemzően 1 alatti értékeket vesz fel.<sup>57,58</sup>

Az eddig ismertetett egyenleteknek fontos feltételei vannak. A Poiseuille-törvény feltételeit tekintve az összefüggés csak fenntartásokkal alkalmazható a vérkeringésre, és inkább csak a nagyerek tartományában értelmezhető. Normál körülmények között az áramlási sebesség fő meghatározói a nyomásgrádiens és az érátmérő változása. Kóros körülmények között, amikor az erek vasoconstrictiós-dilatatiós tartománya beszűkül és hemodinamikai instabilitás áll fenn, a vér viszkozitása jelentősebb tényezővé válik. Azonban az erek fala nem merev (kivéve adott szakaszokon pl. előrehaladott scleroticus folyamatok esetén), a vér nem-newtoni folyadék, az erek nem egyenesek, az érátmetszet talán sohasem szabályos cilindrikus, de semmiképpen sem konstans geometriájú. Elágazások, anastomosisok, a test hely- és helyzetváltoztató mozgásai során a szövetek deformációja mind-mind befolyásolja, pillanatonként alakítja egy adott terület vascularis, micro-vascularis geometriáját a neuralis és humoralis szabályozó mechanizmusok mellett. A keringő vér viszkozitása sem állandó, számos tényező befolyásolja. Az érpályán belül az alakos elemek eloszlása sem homogén, sejt-sejt interakciókkal kell számolni. Ezért még számos macro- és micro-rheológiai tényezőt is figyelembe kell venni a vér áramlástanai értelmezésében a keringés különböző szakaszaiban.

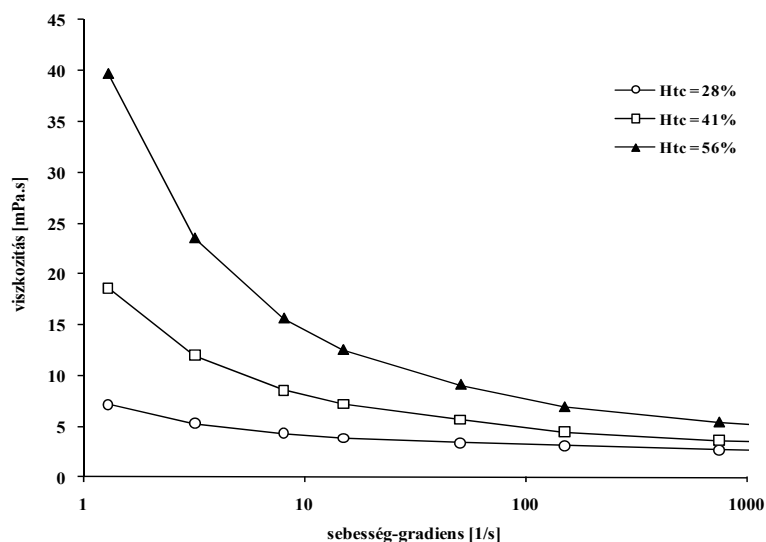
## 2.3. A haemorheológiai paraméterek

### 2.3.1. Vér viszkozitás

A vér nem-newtoni folyadékként viselkedik, azaz viszkozitása függ a sebesség-gradienstől, jellegzetes Casson-típusú görbével írható le (4. ábra). A vér viszkozitását meghatározó fő paraméterek a plazma viszkozitás (mint a szuszpenziós folyadék tulajdonsága), a haematocrit (mint a szuszpendált corpusculumok mennyisége), a vörösvérsejt deformabilitás és a vörösvérsejt aggregatio (II. táblázat).<sup>20,63,71,102,211,296,340</sup>

A vér nem-newtoni karakterisztikája haematocrit- és sebesség-gradiens függő. Alacsonyabb áramlási sebességnél a vér viszkozitása emelkedik (thixotrop hatás) a fellépő vörösvérsejt aggregatio viszkozitást növelő hatása révén. Magasabb sebesség-gradiens mellett a sejtek disaggregálódnak, az áramlás irányába elnyúlnak deformálhatóságuknak, elasztikus tulajdonságaiknak köszönhetően. Ez adja a vér viszkoelasztikus jellegét. A jellemzésére is szolgáló Maxwell-model magában foglalja a reverzibilis elasztikus deformációt, valamint a viszkózus energiával összefüggő elmozdulást.<sup>56,308</sup>

A vér viszkozitás és a haematocrit (Htc) kapcsolata nem lineáris, inkább exponenciális jellegű függvényt mutat ( $\log \eta = k + k' \cdot Htc$ , ahol  $k$  és  $k'$  a vérmintára jellemző konstansok).<sup>71,310</sup> A haematocrit/viszkozitás arány a haematocrit függvényében ábrázolva egy harang-alakú görbére emlékeztető összefüggést mutat, jellemző maximális értékkel, amely a vér oxigénszállító kapacitásának maximumát tükrözi („optimális” haematocrit), azaz a lehető legtöbb vörösvérsejt (a lehető legmagasabb haematocrit) a lehető legalacsonyabb viszkozitás (legjobb fluiditás) mellett adott sebesség-gradiens mellett mérve.<sup>42,100,310</sup>



4. ábra

A vér viszkozitás haematocrit (Htc)-függő profilja a sebesség-gradiens függvényében (Hardeman és mtsai, 2007 adatai alapján)<sup>137</sup>

## II. táblázat. A vér viszkozitását meghatározó fő paraméterek és tényezők.<sup>71,296,310</sup>

Meghatározó tényező	Befolyásoló faktorok, jellegzetességek
plazma viszkozitás	hidráltási állapot nagy méretű, elongált térszerkezetű plazmafehérjék (főként fibrinogén) koncentrációja triglicerid szint
haematocrit	vörösvérsejtszám átlagos corpuscularis térfogat (MCV)
vörösvérsejt deformabilitás	abszolút sejtterfogat felszín-térfogat arány sejt morfológia intracelluláris viszkozitás sejtmembrán viszkozitás, elasztikus tulajdonságok
vörösvérsejt aggregatio	a plazma, mint szuszpenziós közeg makromolekula összetétele (főként fibrinogén koncentráció) vörösvérsejtek felszíni sajátosságai (glycocalyx összetétel) a sejt alaki és mechanikus jellemzői sebesség-gradiens

A vér viszkozitásának meghatározására olyan mérő módszerek alkalmasak, amelyek több sebesség-gradiens mellett képesek meghatározni a viszkozitást. A nyírófeszültség vagy sebesség-gradiens profil generálása történhet a gravitációs erő hatására (pl. a kapilláris viszkoziméterekben), vagy beépített motorika által létrehozott, meghatározott szögsebességgel történő forgó mozgás révén (rotációs viszkoziméterek). A legtöbb viszkoziméter az 1960-as évekig kapilláris típusú volt, később jelentek meg a rotációs viszkoziméterek. Előbbiekben a folyadékoszlop helyzet-idő adataiból lehet az áramlási sebesség-profil meghatározni, és a cső geometriájából adódóan kalkulálható a nyírófeszültség. A rotációs viszkoziméterek geometriája többféle lehet: kúp-sík (cone-plate),

kúp a kúpban (cone-in-cone), vagy koaxiális hengeres (coaxial cylinder, vagy Couette-rendszer) sebesség-gradiens-kontrollált vagy nyírófeszültség-kontrollált formában. A két elem közé tölthető be a mérendő folyadék. Az egyik elem rotor által forgatható beállított szögsebességgel. A nem rotált elemre a folyadék viszkozitásától függő mértékben áttevődő forgatónyomatékból és a következményes elmozdulásból –amely különböző mechanikai és lézer diffrakciós elvvel kombinált módszerekkel mérhető– meghatározhatóvá válik a viszkozitás adott sebesség-gradiens mellett. Ismertek oszcillációs áramlás viszkoziméterek, amelyek a viszkózus komponens (a sebesség-gradiens amplitúdójából kalkulálható) és az elasztikus komponens (a nyírófeszültség sebesség-gradienshez viszonyított fáziskésésből számítva) vizsgálatára alkalmasak.<sup>3,43,137</sup>

### 2.3.2. Plazma viszkozitás

A plazma viszkozitásának fő meghatározó tényezői a víztartalma és a benne lévő elongált térszerkezetű makromolekulák, mint a fibrinogén koncentrációja, ezen kívül globulinfrakciók és a triglicerid szint is fontos tényezők.<sup>71,78,101,139,166,178,310</sup> A fibrinogén szint a cardiovascularis megbetegedések egyik független prediktora, hiszen az atherothromboticus folyamatokban többirányú szerepet tölt be: a thrombocyta aggregatio folyamatában betöltött esszenciális szerepe miatt, a fibrin depozitum és a coagulum méretének befolyásolása, valamint a plazma viszkozitásának növelése révén.<sup>140</sup>

Fontos megjegyezni, hogy amíg a keringés különböző szakaszain az eltérő sebesség-gradiens profil és az alakos elemek, főként a vörösvérsejtek érpályán belüli interakciói és distribúciója révén a vér látszólagos viszkozitása nem állandó, a plazma viszkozitása az érpályán belül konstansnak tekinthető. Így a 300  $\mu\text{m}$  érátmérő alatti tartományban mutatókozó axiális áramlás révén kialakuló endothel-közeli, sejtsegregény vagy éppen sejtmentes zóna (Poiseuille-zóna) és egyes capillaris-szakaszokon megfigyelhető úgynevezett plazma-skimming (amikor adott pillanatban, adott szakaszon a hajszálérben éppen nincs alakos elem, csak a plazma) esetén a plazma viszkozitása tartja fenn, illetve alakítja az endotheliumra ható nyírófeszültség profilt.<sup>71,166,204,310</sup>

A plazma viszkozitás mérésére -tekintettel a newtoni karakterisztikára- olyan viszkoziméterek is alkalmasak, amelyek módszere nem függ a sebesség-gradienstől. Adott geometriájú rendszeren való folyadékáramlási sebességből, helyzet-idő adatokból (U-alakú cső vagy kapilláris rendszerű viszkoziméterek: pl. Ostwald, Coulter-Harkness, Rheomed, Luckham viszkoziméterek), vagy a golyóejtős viszkoziméterekben (pl. Haake-típus) a közegellenállás hatásából a Navier-Stokes egyenlet felhasználásával lehet kalkulálni a folyadék dinamikus viszkozitását:  $F=6\pi r\eta v$ , ahol  $F$  a súrlódási erő,  $r$  a gömb alakú test rádiusza,  $\eta$  a folyadék viszkozitása,  $v$  a gömb alakú test sebessége. Egyszerűbb módszerrel:  $\eta=k(\rho_1-\rho_2)t$ , ahol  $k$  konstans,  $\rho_1$  a golyó sűrűsége,  $\rho_2$  a folyadék sűrűsége,  $t$  a golyó esésének ideje.<sup>17,91,137</sup>

### 2.3.3. Vörösvérsejt deformabilitás

A deformabilitás a nyíróerő hatására kialakuló passzív alakváltozási képesség, amely függ a vörösvérsejtek abszolút térfogatától, felület/térfogat arányától, morfológiai jellemzőktől, a sejtmembrán viszkozitásától és az intracelluláris viszkozitástól (haemoglobin tartalom).<sup>20,59,213,214,251,252,296,299,337</sup>

A vörösvérsejtek membránja a többi sejthez hasonló lipid kettősrétegből épül fel (cholesterol és phospholipidek közel 1:1 arányban). A cholesterol egyenletesen oszlik meg a két réteg között, míg a phosphatidylcholin és a sphingomyelin főként a külső lipidrétegben, míg a legtöbb phosphatidylethanolamin és minden phosphatidylserin a phosphoinositiddel együtt a belső monorétegben található.<sup>77,224,225</sup> A membránban többféle phospholipid transzport protein van ágyazva (részben energiafüggő mechanizmusokkal), amely fenntartja ezt a phospholipid asszimmetriát. Ha a phosphatidylserin megjelenne a külső rétegben, a macrophagok felismernék azt és elpusztítanák a vörösvérsejtet. Emellett a phosphatidylserin-spectrin kötődés növeli a membrán mechanikai stabilitását is.<sup>205</sup>

A vörösvérsejt membránban több mint 50 transzmembrán protein ismert: transzport proteinek (anion transzporter band-3, víz transzporter aquaporin-1, glükóz és L-dehydroascorbinsav transzporter glut1, urea transzporter Kidd antigen protein, gáz transzporter RhAG,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -ATPáz,  $\text{Ca}^{2+}$ ATPáz,  $\text{Na}^+-\text{K}^+-2\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+-\text{Cl}^-$ ,  $\text{Na}^+-\text{K}^+$ ,  $\text{K}^+-\text{Cl}^-$  kotranszporterek, Gárdos-csatorna), adhaesiós molekulák, receptorok, vércsoport antigének, A-D glycophorin komplexek, egyéb proteinek.<sup>154,225</sup> A sejt felszínén lévő glycocalyx réteg (5-50 nm) szialsav reziduuma nagyban hozzájárulnak ahhoz, hogy a vörösvérsejtek felszíni töltése nettó negatív (zéta potenciál: -15,7 mV; a szialsavak eltávolítása után: -6,06 mV).<sup>24</sup>

A membránproteinek két fő horgonyzó makromolekula komplexe ismert, amely a membrán skeletális proteinekhez való kapcsolódást teszi lehetővé. Az egyik ankyrin alapú (LW, GPA, band-3, Ph, RhAG, CD47, glycophorin-A, protein 4.2 – ankyrin, kötődés a band-3 révén), a másik protein 4.1R alapú (Glut1, band-3, Rh, Duffy, Kell, XK, glycophorin-D, p55 – protein 4.1R, kötődés a glycophorin-D révén). A spectrin - actin - protein 4.1R junkcionális komplexben adducin és dematin is részt vesz. A membrán kettősréteg alatt húzódik az  $\alpha$  és  $\beta$ -spectrinből felépülő, helikális szerkezetű filamentumokból álló hexagonális szerkezetű háló, amely skeleton felépítésében és stabilizálásában actin, protein 4.1R, protein 4.2, p55, adducin, dematin, tropomyosin és tropomodulin is részt vesznek. Ez a struktúra adja a vörösvérsejt membrán elaszticitását, mechanikus stabilitását. Nemcsak a proteinek sorrendiségétől, de foszforilációs állapotuktól és az intracelluláris  $\text{Ca}^{2+}$  koncentrációtól is függ a stabilitás.<sup>35,77,87,224,225,226,228,302</sup> A több mint 340 eddig ismert vörösvérsejt membrán protein közül 105 membrán integrált proteint azonosítottak a vörösvérsejteken. Az összetettséget és a megválaszolatlan kérdések sokaságát jelzi az is, hogy mintegy 80%-ukat még nem illesztették be strukturális-funkcionális modellekbe, szerepük még nem ismert.<sup>154,225,247</sup>

Az emlősök és az ember érett vörösvérsejtei magvatlanok, ezért a sejten belüli viszkozitást, a cytoplasma viszkozitását döntően a haemoglobin oldat jellege határozza meg.



Ha az átlagos sejt haemoglobin koncentráció (MCHC) 37 g/dl fölé emelkedik, az intracellularis viszkozitás meredeken emelkedik, kihatva az egész sejt deformálhatóságára, s ezáltal a microcirculatio területén való áthaladási nehezítettség miatt a szöveti perfusióra, az oxigenizáltságra is. Az MCHC ezért egy viszonylag szűk tartományon belül (30-35 g/dl) szabályozott, aminek kulcsszereplői a sejt volumen regulációjában résztvevő ATP-dependens  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$  transzporterek.<sup>20,77,225</sup>

Az emberi vörösvérsejtek néhány rheologiai paraméterét a III. táblázat foglalja össze.

**III. táblázat.** A normál humán vörösvérsejtek rheologiai jellemzői Cooke alapján.<sup>77</sup>

Paraméter	Érték	Leírás
Átlagos corpuscularis térfogat	90 fl	
Membrán felület	$\sim 140 \mu\text{m}^2$	A bikonváv sejtalakból adódóan mintegy 40% felszíntöbblet van, mint amennyi a sejt volument szferikus alakba tömörítené.
Membrán viszkozitás	0,7 $\mu\text{Pasm}$	Ez az érték nagyobb az intracelluláris viszkozitásnál, és az egyszerű lipid kettősréteg viszkozitásánál.
Citoplasma viszkozitás	6,4 mPas	Nagymértékben függ az átlagos corpuscularis haemoglobin koncentrációtól.
Membrán nyírási (elongatiós) elastikus modulus	6 $\mu\text{N/m}$	A nyíróerő-deformáció gradiensből adódik a sejtek lineáris feszítése során. Függ a membrán skeleton szerkezetétől. A vörösvérsejt fő elastikus jellegzetességét adja.
Hajlítási, gyűrődési elastikus modulus	$1,6 \times 10^{-19} \text{ Nm}$	A gyűrődéssel szembeni ellenállást fejezi ki.
Nyújtási deformációt követő alak visszanyerési idő	0,12 s	A membrán viszkozitás és a nyírási elastikus modulus hányadosa.
Gyűrődési deformációt követő alak visszanyerési idő	0,31 s	A cytoplasma viszkozitás és a gyűrődési elastikus modulus hányadosa.

A vörösvérsejtek viszkoelastikus karakterisztikája összetett. A viszkozitási tulajdonság a membrán viszkozitásból és a cytoplasma viszkozitásból adódik. Az elastikus tulajdonság felszín expanziós, nyírási és hajlítási elemekből tevődik össze.<sup>144,168,308</sup>

A felszín expanziós (vagy kompressziós) modulus ( $K$ ) tükrözi a tárolt elastikus energiát, ami a membrán izotrópikus felszíntágulás vagy -zsugorodás révén adódik:  $T_t = K (\Delta A/A_0)$ , ahol  $T_t$  a feszülési erő,  $\Delta A$  a felületváltozás,  $A_0$  az eredeti felület.

A nyírási modulus ( $\mu$ ) azt az elastikus energiát fejezi ki, amely azonos felület melletti membrán extenzióból adódik:  $T_s = (\mu (\lambda^2 - \lambda^{-2})) / 2$ , ahol  $T_s$  a nyíróerő,  $\lambda$  az extenziós arány.

A hajlítási modulus ( $B$ ) kifejezi azt az energiát, ami szükséges a membrán eredeti görbületéből egy másik görbületbe való hajlításához:  $M = B (C_1 + C_2 - C_0)$ , ahol  $M$  a hajlítás momentuma,  $C_1$  és  $C_2$  görbületek,  $C_0$  a feszülésmentes állapot görbülete.<sup>168</sup>

A vörösvérsejtek mozgása az áramlási viszonyoktól függően bonyolultan írható le. Gördülés, forgás, lengés, elongatio, ütközések következtében kialakuló elastikus deformáció, és mindezek kombinációja, igen nehezen modellezhető komplexitásukban. Alacsony viszkozitású közegben szuszpendálva a sejteket (mint például a plazma) a mozgásuk a szilárd testekéhez hasonlít. Ahogy az áramlási sebesség fokozódik, a legtöbb sejt egy pálya mentén

áramlik ( $C=0$ ), ahol a szimmetriai axisuk (merőleges a nyírási síkra) körül forognak.<sup>39</sup> Ha a sejtek magasabb viszkozitású közegben vannak szuszpendálva, egy kritikus sebesség-gradiens felett a sejtek viselkedése a folyadékcseppekéhez hasonlít. A membrán közvetíti a nyomatókot a cytoplasma felé, miközben az áramlás orientációját tartja. Alacsony és mérsékelt sebesség-gradiensnél a sejtek biconkáv alakja még megtartott marad, magasabb értékeknél elongálódnak, alakjuk ellipsoid formát ölt. A pulzatilitás hatására, illetve oszcillációs áramlás során a sejtek inklinációs szöge nem azonos, kaotikussá válik. Kisebb kaliberű erekben, főként a capillarisok területén egyre nagyobb szerepet kap a súrlódás, nemcsak a sejtek között, hanem endothel-vérsejt vonatkozásában is. Az erythrocyták közepükön, legvékonyabb területükön benyomott fánkokra emlékeztető alakzatba sorjázva áramlanak.<sup>96,111,123,277,278,327</sup>

A keringés különböző szakaszain tehát eltérő mértékben játszik szerepet a deformabilitás. A romló deformabilitás, azaz a vörösvérsejtek rigidebbé válása, a keringés tömeges áramlás szakaszában (érátmérő  $>300\ \mu\text{m}$ ) a vérviszkozitás emelkedéséhez vezethet. A csökkent deformabilitású vörösvérsejtek a legjelentősebb problémát a mikrokeringés területén okozhatják (érátmérő  $<100\ \mu\text{m}$ ), ott is az úgynevezett egyenkénti áramlás szakaszában, a capillarisok területén. Itt  $3\text{--}5\ \mu\text{m}$  átmérőjű hajszálerek is előfordulnak – nem beszélve a lép vörös pulpáján keresztül a még kisebb átmérőjű réseken át történő fenestrációról. Ezeken a capillarisokon való áthaladáshoz elengedhetetlen a megfelelő deformabilitás. A létrejövő mikrokeringési, perfúziós zavarok tekintetében –a sebészet számára is– kritikus fontossággal bír a szív, az agy, a vese, a máj és a splanchnicus terület.

A vörösvérsejt deformabilitás meghatározására számos módszer, többféle megközelítés ismert. A legismertebbek és a mai napig is használatosak a filtrációs módszeren alapuló technikák, a mikropipettás aspirációs technika, a mikrocsatornás módszerek és az ektacytometria.<sup>137,168,230</sup>

Az 1960-as években kezdték használni a filtrációs technikát: adott pórusátmérőjű filteren ( $\sim 200\ 000$  pórus) való vérsejt-szuszpenzió áthaladás paramétereit mérve (filtrációs nyomás, áramlási sebesség) lehet következtetni a sejtek deformabilitására, miközben a pórusok eltömődése miatt a szűrőmembrán áteresztőképessége folyamatosan csökken. A kezdetben használt papíryanagú filtereket felváltották a polimerekből készült,  $3$ ,  $5$  és  $8\ \mu\text{m}$  átmérőjű és  $10\ \mu\text{m}$  hosszúságú, hengeres csatornákat tartalmazó szűrőmembránok. A klasszikusnak tekinthető Reid-Dormándy-féle filtrációs eljárás konstans (10%) haematocritú vörösvérsejt-szuszpenzió szűrését jelentette  $5\ \mu\text{m}$  pórusátmérőjű filteren. Az elv továbbfejlesztésével Dormándy János Mátrai Árpáddal és munkatársaival elkészítette a St. George's Filtrometert. E technikán alapul a hazai fejlesztésű Carat FT-1 és az M200 típusú filtrométer (Carat Diagnosztika Kft., Budapest).<sup>92</sup> Az oligopore ( $20\text{--}30$  pórus) illetve az egyetlen pórusú technikák (Single Erythrocyte Rigidometer, SER) szofisztikáltabb módszerek, itt főleg a filter két oldala közötti konduktivitás megváltozásának ideje függ össze a póruson éppen áthaladó vörösvérsejtek jelenlétével, amely folyamatot a kapcsolt számítógép a pórus tranzitidő hisztogram szerint analizálja (Cell Transit Analyzer, CTA).<sup>137</sup>

A mikropipettás módszerrel egyetlen sejt vizsgálható amely egészben vagy részben kerül aspirációra egy 1-5  $\mu\text{m}$  átmérőjű üvegapillárisba. A negatív nyomás mérése és az aspirált membránszakasz hossza adja a nyírási elasztikus modulust, míg a teljes sejt aspirációja a deformabilitást. Komoly technikai felkészültség szükséges hozzá.<sup>137,168</sup>

A mikrocatornás módszer alapja, hogy egy vagy több, egymással párhuzamos, vagy az újabb módszereknél akár egy capillaris hálózatot utánzó geometriájú rendszerben áramoltatják át a sejt-szuszpenziót, miközben a vörösvérsejtek mozgása, a csatornácskákon való áthaladási idő, a sejtek helyzete vizuálisan elemezhető a videofelvétel off-line analízisével.<sup>114,132,137,168,285</sup>

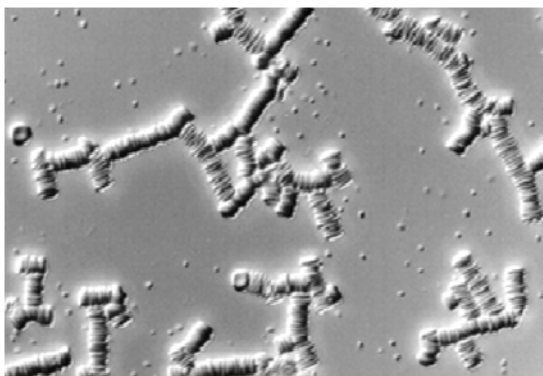
Az ektacytometria a magas viszkozitású makromolekula oldatban szuszpendált és nyíróerő hatására elongálódó vörösvérsejtekről visszaverődő lézernyaláb diffrakciós analízisének alapul, megadva a sejtpopuláció elnyújthatósági, elongációs indexét a nyírófeszültség függvényében.<sup>34,137,138</sup>

További módszerek a rheoscope technika (az ektacytometria és a mikroszkópia kombinációja), az atomerő mikroszkópia, az optical tweezer, a magnetic twisting cytometria.<sup>168</sup>

Az individuális vörösvérsejtek deformabilitásának vizsgálatát lehetővé tevő módszerek igen értékes információkat nyújtanak a sejtek mechanikai tulajdonságairól. Azonban egy-egy sejt vizsgálata nem tükrözi a különböző korú és állapotú vörösvérsejt populációk jellegzetességeit, mint ahogy a nagyszámú sejtek tömeges filtrációját vagy elongációját vizsgáló módszerek is keveset mondhatnak az egyes sejtek deformabilitásáról. A legtöbb módszer teljes mértékben afiziológiás körülmények között zajlik: mosott vörösvérsejtek különböző pufferekben való szuszpenziója, a teljes vér magas viszkozitású makromolekula közegben való elegyítése, egy-egy sejt mikropipettás aspirációja, vagy a sejt-szuszpenzió egy előre meghatározott geometriájú rigid mikrocatorna rendszeren való átáramoltatása nem tükrözheti pontosan a keringési viszonyokat. Ma még nem ismert olyan módszer, amely *in vivo* lenne képes vizsgálni a vörösvérsejtek mechanikai, deformabilitási tulajdonságait.

#### 2.3.4. Vörösvérsejt aggregatio

A vörösvérsejt aggregatio a sejtek reverzibilis összekapcsolódását jelenti, amely alacsony sebesség-gradiens mellett, illetve stasis során következik be (5. ábra). A vörösvérsejtek kezdetben pénztekercs-szerűen egymás mellé rendeződnek (rouleaux-forma). Ez néhány másodperc alatt lezajlik: az egyszerűbb rouleaux-k 1-5 másodperc, a nagyobb, már összekapcsolódott sorozatok lassabban, további 10-60 másodperc alatt alakulnak ki két-, majd háromdimenziós alakzatba rendeződve, amíg az aggregatiót fenntartó hatások jelen vannak.<sup>20,24</sup> Anticoagulált vérmintákban az aggregatumok nagyobb gömbökké állnak össze, majd a gravitáció hatására süllyedni kezdenek. Ez adja az erythrocyta szedimentációs ráta (ESR) vizsgálati jelentőségét, hiszen ha az aggregatio gyors és/vagy nagymértékű, a vérsüllyedés is fokozottabb lesz.<sup>137</sup>



### 5. ábra

Humán vörösvérsejtek aggregációjának  
fáziskontraszt mikroszkópos képe  
(fotó: Prof. Oguz K. Baskurt jóvoltából)

A vörösvérsejt aggregatio folyamata a mai napig nem tisztázott teljesen. Az emlős fajok –beleértve az embert is– között mutatkozó zavarbaejtő erythrocyta aggregációs diverzitás és a valódi *in vivo* jelentőségének és számos kórfolyamatban mutatkozó nagymértékű fokozódásának még nyitott kérdései izgalmas területet jelentenek a haemorheológiai alap kutatások számára.

Jelenleg két modellelmélet magyarázza az aggregatio létrejöttét. (1) Az egyik modell szerint az egymáshoz közel kerülő vörösvérsejtek aggregációja makromolekulák (nagy, elongált szerkezetű proteinek, mint a fibrinogén, vagy *in vitro* különböző polimerek) nem-kovalens kereszt-kapcsolódásai révén jön létre (*bridging modell*). Ez a gyenge kötődés felbomlik, ahogy a diszaggregáló erők kerülnek túlsúlyba: mint az elektrosztatikus repulzió (a sejt felszín nettó negatív töltése miatt), a membrán feszülés, deformáció, továbbá a mechanikai nyíróerők révén (az aggregatumok teljesen diszperzálhatóak  $20\text{--}40\text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiens felett). Ez a modell azt feltételezi, hogy a protein vagy polimer koncentráció a sejt felszínnél magas kell legyen. A sejt felszíni struktúrákhoz nem specifikusan kötődő, abszorválódó makromolekulák méretük és mennyiségük révén ellensúlyozhatják az elektrosztatikus repulziót, elősegítve az aggregatiót. (2) A másik magyarázat szerint éppen a sejt felszín glycocalyx struktúrája miatt nem képesek a makromolekulák egészen a membránig penetrálni, ezért a sejt felszín közvetlen közelében valójában makromolekula-szegény réteg, depléciós zóna alakul ki (*depletion modell*). Amint két vörösvérsejt egymás közelébe kerül, a plazma fázisban lévő makromolekula koncentráció és a depléciós zóna között kialakuló ozmotikus gradiens révén keletkezhet egy „összeszippantó” erő, ami az aggregatiót adja. Minél nagyobb a makromolekula koncentráció, annál erősebb lehet ez a gradiens, fokozott aggregatiót előidézve.<sup>24,240</sup>

Nincs egyértelmű álláspont a két elmélet abszolút létjogosultsága ellen vagy mellett, bár a legtöbb bizonyíték a depléciós modell alátámasztására ismert.<sup>24</sup> Ugyanakkor nem kizárt a sejtek közötti direkt, akár specifikus kereszt-kötődés-jellegű kapcsolatok megléte sem. Carvalho és munkatársai atomerő mikroszkópián alapuló spektroszkópos vizsgálataikkal elemezték a thrombocyták felszínén meglévő  $\alpha_{IIb}\beta_3$  glycoprotein komplexhez hasonló struktúrákat vörösvérsejteken is, amelyek a fibrinogén direkt kötődését teszik lehetővé. Ezeknek az erythrocytákon is meglévő receptoroknak kisebb az affinitása, mint a

vérlemezekén lévőké, a receptor-fibrinogén kötődés kisebb energia igénybevételével felszakítható.<sup>55</sup> Elképzelhető, hogy a két modell együttesen is igaz? A depléciós energiák a sejtek „összeszippantásához” fontosak, és ha már ebben a helyzetben, egymáshoz közel vannak, akkor már a valódi kereszt-kötődések is létrejöhetnek? Egyértelmű magyarázat erre a feltevésre nincs még.

Annyi bizonyos, hogy a különböző plazmaproteinek, illetve *in vitro* az eltérő molekulaméretű polimerek különböző mértékben hatnak az aggregációs folyamat létrejöttére és annak mértékére. A vörösvérsejtek aggregabilitása az aggregációs készségre utal, amelyet celluláris faktorok befolyásolnak és független a plazma tulajdonságaitól. Az aggregabilitás összehasonlítható jelleggel különböző makromolekula oldatokban *in vitro* vizsgálható.<sup>23</sup> Kimutatták, hogy a plazmafehérjék közül a fibrinogén, a C-reaktív protein és az immunoglobulin M a vörösvérsejt aggregációt elősegítő, azt fokozó hatással bírnak, az immunoglobulin G, a haptoglobin inkább növelő, mintsem indifferens hatást mutatnak, míg a transferrin, a caeruloplasmin és az albumin nem befolyásolja az erythrocyta aggregációt.<sup>24,271</sup> *In vitro* a vörösvérsejtek aggregációját a nagy molekulású makromolekulák és polimerek, mint a 60 vagy 73 kDa dextrán, vagy a 360 kDa polyvinyl-pyrrolidon (PVP), illetve a 36 kPa polyethylen-glycol (PEG) elősegítik, ugyanezek kisebb kDa-ú változatai hatástalanok az aggregációra nézve (pl. PEG 10, Dex 10,5 vagy 18,1). Armstrong és munkatársai megállapították, hogy amennyiben a makromolekulák, polimerek hidrodinamikai rádiusza 4 nm-nél nagyobb, az aggregációt fokozó hatással bírnak, ha kisebb ennél, az aggregációt nem befolyásolják.<sup>8,24</sup>

Ha kevés számú vörösvérsejt van jelen adott területen, ahol egyébként az aggregatio más feltételei adottak, kisebb eséllyel és kevesebben kerülnek egymás közelébe. Az aggregatio függ tehát a haematocrittől is: az aggregációs index (AI, az aggregatio mértékével növekszik) 20-40% Htc között közel lineáris összefüggést, pozitív korrelációt mutat, 40-50% Htc között a görbe meredeksége kisebb, míg 50-60% között már nem változik jelentősen az AI egységnyi Htc növelése mellett.<sup>24</sup>

Az aggregációhoz a bikonkáv sejthalak megléte is elengedhetetlen. Ovalocytá, spherocytá, echinocytá, sphero-echinocytá sejthalakok nem vagy csak alig képesek aggregálódni.<sup>261,264</sup> Az aggregatio során a legkisebb energiavesztés elve szerint a maximális felületen való kapcsolódás irányába zajlik a folyamat. Ezért előnyös a bikonkáv alak, s ezért alakulhatnak ki viszonylag gyorsan a pénztekercs-formák, majd ezekből a vég- és oldalkapcsolódásokkal a kisebb felülettel bíró geometriai alakzatok.

Az aggregatio folyamata és mértéke függ tehát a sebesség-gradienstől, a plazma fibrinogén koncentrációjától, a haematocrittől, valamint olyan cellularis tulajdonságoktól, mint a vörösvérsejtek sejtfelszíni glycocalyx összetétele (a depléciós zóna jellege, lehetséges direkt kapcsolatokat lehetővé tevő glycoproteinek) és a sejt alaki jellemzői (bikonkáv forma). Mindez igen összetett módon változhat különböző betegségekben, kórállapotokban, s nagy diverzitásnak ad hátteret különböző emlős állatfajok és az ember összehasonlításában is.

A vörösvérsejt aggregatio meghatározására számos indirekt és direkt módszer ismert. A már említett erythrocyta szedimentációs ráta (ESR) mérésén alapuló klasszikus és modern módszerek (Westergren, Seditainer, Automata ESR) széles körben használatos, jól standardizált eljárások. Emellett ismert a zeta szedimentációs ráta (centrifugálás révén) meghatározása és az alacsony sebesség-grádiensnél (pl.  $1 \text{ s}^{-1}$ ) mért vérviszkozitás eredményeiből való indirekt aggregációs paraméter meghatározása (aggregációs index =  $(\eta_{\text{alacsony}} - \eta_{\text{magas}}) / \eta_{\text{magas}}$ , ahol  $\eta$  egy adott alacsony illetve egy magasabb sebesség-gradiens mellett meghatározott vérviszkozitás). Mikroszkópos technikákkal vagy rheoscoppal az aggregatumok morfológiája is vizsgálható, méretük és az aggregatumonkénti vörösvérsejtszám meghatározható. Ezzel a módszerrel a heteroaggregatumok (fehérvérsejt, thrombocytá, vörösvérsejt) is elkülöníthetők. Ultrahangos módszerek non-invazív *in vivo* vizsgálatokra adnak lehetőséget (főleg B-módú echográfia) adott vascularis területen belül létrejövő aggregációról.

A klinikai és kísérletes haemorheológiai vizsgálatokban a leggyakrabban alkalmazott módszerek fotometriás elven alapulnak. A vérminta adott hullámhosszra vonatkozó fényáteresztőképességét fokozza az aggregatumok jelenléte, hiszen ilyenkor a particulumok közötti plazma fázis (vagy más szuszpendáló medium) szélessége nő. Disaggregatio során a nagyobb felületen szétszórt sejtek ezt csökkentik. Ezen alapulva a különböző módszerek vagy a fénytranszmissziót (pl. Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer), vagy a fény (lézer) visszaverődését elemzik (syllectometria, pl. LORCA). Ezekkel a módszerekkel az aggregatio mértéke és dinamikája is vizsgálható.<sup>17,25,136,137,276</sup>

## 2.4. A microcirculatio haemorheológiai vonatkozásai

A mikrokeringés rheológiai viszonyainak és azok egymásra hatásának vizsgálata nem egyszerűsíthető le a Poiseuille-törvény rigid falú és egyenes, szabályos csövekre vonatkozó összefüggéseire. A microcirculatio hatalmas kiterjedésű területe áramlástani szempontból sem egységes. Az érátmérőn és érgeometrián túlmenően a viszkozitás sem tekinthető állandónak a vörösvérsejtek axiális migrációja (Fåhræus és Fåhræus-Lindqvist effektus), a fázisszeparáció, a szöveti haematocrit (microvascularis haematocrit) igen változatos és változékony eloszlása, valamint az egyenkénti áramlás zónájának sajátosságai miatt.<sup>121,195,196,197,204,256,257</sup>

Az izolált szerveknél, perfusiós *ex vivo* modellekben ezért az érfal átmérőjének állandóságát biztosító megoldások (maximális dilatatio vagy maximális constrictio) csak akkor tudnának átfogó képet adni, ha azt feltételeznénk, hogy a keringés minden szakaszán a viszkozitás állandó. Ez pedig nyilvánvalóan nem igaz. Ezért is van szükség a micro-rheológiai paraméterek szerepének tüzetesebb vizsgálatára, hiszen az axiális áramlás mértékének és így az érfalra kifejtett nyírófeszültség kialakításában -a plazma viszkozitás mellett- fontos szerepe van a vörösvérsejt aggregációnak, valamint főként a capillarisos területén a deformabilitásnak.

Számos további tényezőt is figyelembe kell venni a keringési viszonyok jobb megértéséhez a mikrokeringés területén: rendkívül változatos és hálózatos ér-geometria (figyelembe véve a szinte soha nem szabályos körként jellemezhető ér-átmetszetet is), érfal rugalmassága, hemodinamikai sajátságok, áramlási profil és annak leírását segítő paraméterek (pl. Reynolds-szám, Womersley-szám).<sup>56,57,102,339,351</sup> A haemorheológiai faktorok és a microcirculációs sajátságok összefüggéseinek további tanulmányozásában nagy jelentőséggel bírhatnak azok az *in vivo* modellek, amelyek a lehető legtöbb fent részletezett paraméter párhuzamos vizsgálatát tudják nyújtani.

Fåhræus 1958-ban megfigyelte, hogy fokozottabb aggregatio mellett az üvegkapillárisban ( $d = 95 \mu\text{m}$ , áramlási sebesség =  $3,3 \text{ mm/s}$ ) mutatózó axiális áramlás, azaz a vörösvérsejtek áramlási tengely mentén való tömörülése kifejezettebb, a sejtmentes széli zóna szélesebb.<sup>105</sup> A lamináris áramlás kialakulásával adódó parabolikus áramlási sebesség-profil és az ezt némileg tompító keringő particulumok (vérsejtek) jelenléte együttesen alakítja ki a jellemzően  $200\text{-}300 \mu\text{m}$  érátmérő alatti tartományban mutatózó jelenséget, a vörösvérsejtek axiális migrációját. Az ér átmetszetén belül eszerint nem egyenletes a vörösvérsejtek eloszlása és sebessége, ami a haematocrit dinamikus redukciójához, a Fåhræus-effektushoz vezet.<sup>104</sup> Az érfal mentén egy vörösvérsejtekben szegény, vagy sejtmentes széli plazma zóna alakul ki (Poiseuille-zóna), amely az érfal és az áramló folyadék kapcsolata tekintetében csökkenti a súrlódási, ezáltal a hidrodinamikai ellenállást. Amennyiben az áramlási sebesség elég nagy, minden alakos elem az áramlási tengely felé tömörül. Amikor a sebesség-gradiens és nyomásviszonyok lehetővé teszik a vörösvérsejt aggregatio létrejöttét (jellemzően a postcapillaris venulák és venulák területén), az axis mentén áramló particulumok (aggregatumok) mérete ezáltal megnövekszik, a Poiseuille-zóna szélesedik, elősegítve a fehérvérsejtek marginációját is.<sup>22,24,234,346</sup>

A mikrokeringésben az egyenkénti áramlás szakaszához (capillarisok) közelítve a rendkívül változatos elágazódások, összeköttetések, kanyarulatok, endothel-felszín sajátságok révén is az egy-egy oldalágba jutó vörösvérsejtek száma pillanatról pillanatra változik. Egyszer igen nagyszámú vérsejt lehet jelen adott szakaszon, magas lokális haematocritot adva, s akár szerelvényyszerűen tömörödve a méretéből adódóan egy-egy lassabban, nehezebben haladó fehérvérsejt mögött, máskor alig vagy egyáltalán nincs egy rövid időre vörösvérsejt az adott capillaris szakaszon. Mindez a szöveti, microvascularis haematocrit igen széles tartományban mozgó változatosságát adja.<sup>196,197,256,310</sup>

A mikrokeringés nagyléptékű fejlődést mutató modern mérő-, vizsgálómódszerei (pl. laser Doppler technikák: hagyományos laser Doppler, fast full-field laser Doppler perfusion imaging, laser speckle contrast analysis - LASCA; intravitális videomikroszkópia módszerek: hagyományos videomikroszkópia, orthogonal polarization spectral - OPS imaging, sidestream dark-field - SDF videomikroszkópia; optikai microangiographiás módszerek) átfogó betekintést adnak egy szöveti terület mikrokeringési mintázatáról.<sup>182</sup> Ugyanakkor az ott áramló vér tulajdonságainak megismerése és megértése nélkül nem lehet teljes a kép.

## 2.5. Pathophysiologiai jelentőség – ischaemia-reperfusio

A micro-rheologiai paraméterek érzékenyen változnak számos pathophysiologiai folyamatban: szabadgyökök okozta károsodások során, gyulladásos folyamatokban, anyagcsere betegségeken, különböző haematologiai, cardio- és cerebrovasculáris kórképekben, sepsis-ben, valamint a lépfunkció csökkenése vagy elvesztése következtében.<sup>29,30,90,167,170,222,270,309,311,338</sup> Ezek közül kiemelkedő jelentőségű az ischaemia-reperfusio, ahol a vörösvérsejt deformabilitás és aggregatio jelentős mértékű változásokat mutathat.<sup>93,94,113,146,169</sup> A romló deformabilitás és a fokozott aggregatio együttesen a vérviszkozitás jelentős emelkedéséhez és a microcirculatio területén szignifikáns mértékű áramlás-lassuláshoz, vagy adott capillarisokban perfusio zavarokhoz is vezethet.<sup>29,30,195,196</sup> E problémakör a szükségyszerű érleszorítással járó sebészeti beavatkozásoknál, illetve a szerv- és szövettranszplantáció során is nagy klinikai jelentőséggel bír.

A kérdés, hogy milyen micro-rheologiai változások jöhetnek létre ischaemia-reperfusio során, igen összetett háttérű. Az ischaemia-reperfusio pathomechanizmusa a sejt ischaemia alatt bekövetkező hypoxiás károsodástól, a reperfusio során megjelenő oxigén révén a szabadgyökös szövetkárosodástól és ezek talaján kialakuló gyulladásos válaszreakciókból („steril gyulladás”; endothel-károsodás, neutrophil-, macrophag-, complement aktiváció, citokin felszabadulás, natív immunválasz, thrombocyta aktiváció) tevődik össze.<sup>6,48,73,98,127,148,155,173,231,325,333,336</sup>

A folyamat során a vér rheologiai tulajdonságai több mechanizmus útján is megváltozhatnak. Az ischaemia során a kirekesztett régióban pangó vér rheologiailag lényegesen rosszabb minőségű, amely a leszorítás időtartamának megnyúlásával súlyosbodik. A felengedés után a szisztémás keringésbe bekerülő metabolitok és károsodott vörösvérsejtek további változásokat okozhatnak a microcirculatio területén akár távolabbi szervekben is. Ischaemia során a keringéstől elzárt területen a pangó vér laktát koncentrációja emelkedik, a pH-ja csökken, ami a bikonkáv, discocyta alakú vörösvérsejtek kezdetben reverzibilis stomatocyta formává való átalakulásához vezet, amely később már irreverzibilissé válik (sphero-stomatocyta).<sup>52,74,75,76,189,261,262</sup> Amennyiben az ATP deplécio, illetve a kalcium akkumuláció a domináns, inkább echinocyta és sphero-echinocyta formák jelennek meg. Mindkét morphologiai átalakulási irány rosszabbodó micro-rheologiai tulajdonságokkal kísért: elsősorban romló deformabilitás képében.<sup>52,213,261</sup>

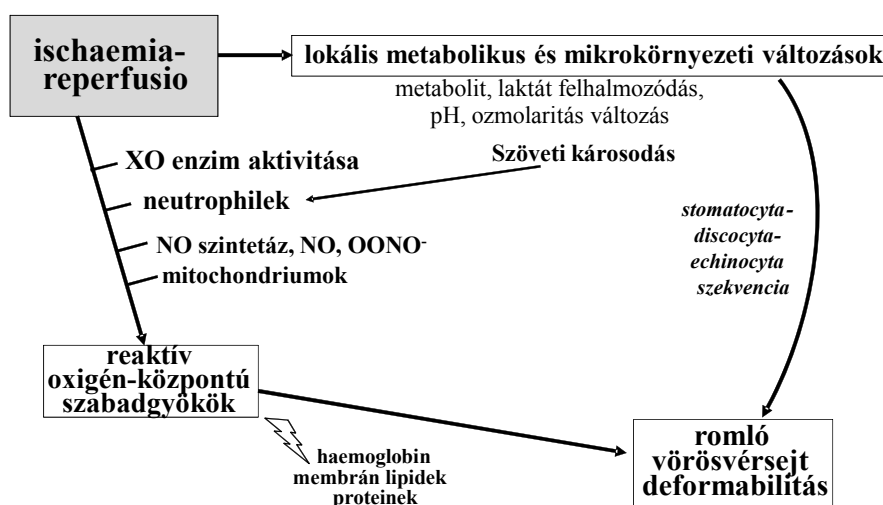
A reperfusio során igen korán (percek alatt) nagymennyiségű oxigénközpontú szabadgyök szabadul fel. Ebben a folyamatban kulcsszereplő a sejtekben (az egyes szervek sejtjei között eltérő eloszlásban)<sup>273</sup> legnagyobbbrészt dehidrogenáz formában jelenlévő, majd a hypoxia alatt a  $\text{Ca}^{2+}$ -influx során aktiválódó proteolitikus enzimek hatására oxidáz formává alakuló enzim, a xantin-oxidáz (XO). A működése révén felszabaduló szuperoxid anion ( $\text{O}_2^{\bullet-}$ ) igen reaktív szabadgyök, a szövetek károsodásához vezető láncreakciót indít el.<sup>129,177,208,273</sup> A szuperoxid anion hidrogén-peroxiddá ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) alakul a kataláz hatására. A Haber-Weiss reakció során (ennek második lépése a Fenton-reakció vas anion jelenlétében) szuperoxid anionból és hidrogén-peroxidból molekuláris oxigén mellett további szabadgyökök



keletkeznek: a hidroxil anion ( $\text{OH}^-$ ) és a hidroxil-gyök ( $\bullet\text{OH}$ ). A szabadgyökök aktiválják a mitogen-aktivált protein kináz (MAPK) útvonalat, oxidatív DNS károsodás előidézésével a poly(ADP-ribóz) polimeráz 1 (PARP-1) útvonalat, továbbá direkt károsítják az endothelt, amely adhaesiós molekulák (E- és P-selectin, intercellularis adhaesiós molekula 1, ICAM-1) expressziójához és így a gyulladásos válaszreakció továbbgördüléséhez vezet.<sup>98,155,177,185,231</sup>

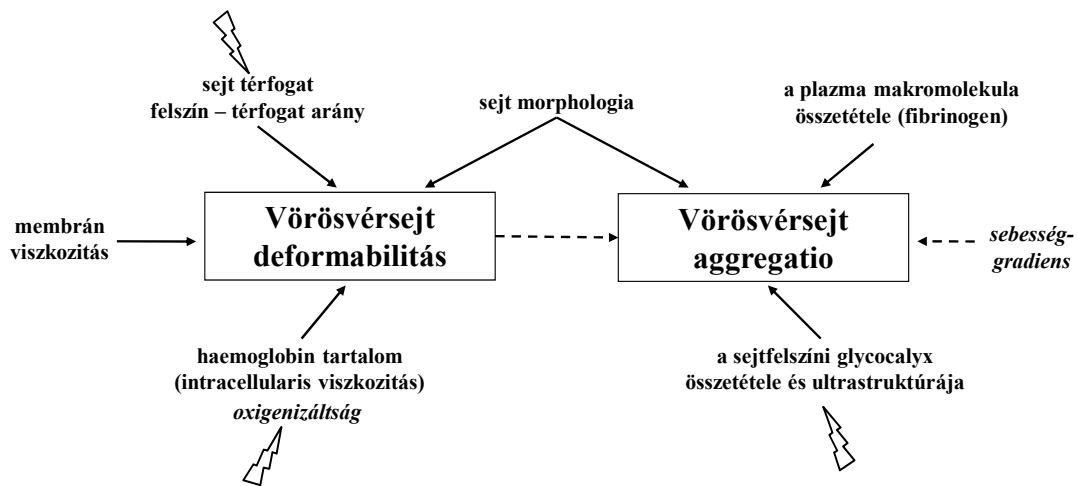
A szabadgyökök a vörösvérsejtekben is károsítják a sejtmembránt (lipidperoxidáció), szulfhidril-keresztkötések kialakulásával a transzmembrán proteineket (receptorok, ionpumpák), a haemoglobin molekulákat (methaemoglobin, Heinz-test képződés), valamint strukturális proteineket egyaránt. A vörösvérsejtek gazdagok vasban, ami a Fenton-reakció révén katalizálja a szabadgyök-reakciókat, igen érzékennyé téve e sejteket az oxidatív stresszel szemben.<sup>6,26,30,98</sup> Szuperoxid anion és nitrogén-monoxid együttes jelenléte peroxinitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) képződéséhez vezet, amely igen erős károsító hatású szabadgyök az erythrocytákra nézve is.<sup>294</sup> További jelentős szabadgyök-forrást jelentenek a gyulladásos folyamat során aktiválódott leukocyták.<sup>6,98,185,231</sup> A metabolikus és a szabadgyökök okozta károsodások hatására romlik a vörösvérsejt deformabilitás (6. ábra).<sup>9,26</sup> A vér oxigenizációjában és a sav-bázis paraméterekben, a laktát koncentrációban és a pH-ban bekövetkező változások mind a vörösvérsejtek deformabilitására, mind aggregációs készségükre kihatnak (7. ábra).<sup>15,30,68,82,151,176,193,321,335,345,348</sup>

A szöveti ischaemia-reperfusióra karakterisztikus lehet a „no-reflow” jelenség kialakulása, amit a repersziókor a nagyerekben újrainduló keringés ellenére a microcirculatio területén keringésllassulás vagy teljes keringésmegállás jellemez. A jelenséget összetett változások okozzák: microvascularis spasmus, endothel sejtek duzzadása, capillaris permeabilitás növekedése, interstitialis oedema, micro-thrombusok, neutrophil leukocyták kitapadása, lokális acidózis. Mindehhez hozzájárul a romlott deformabilitású és/vagy fokozott aggregációs készséggel bíró vörösvérsejtek jelenléte.<sup>4,153,165,218,260,329</sup>



6. ábra

Az ischaemia-reperfusio során bekövetkező vörösvérsejt deformabilitás romlás lehetséges folyamatai (Németh N. és mtsai, Clin Hemorheol Microcirc 2014;57:215-225.)



7. ábra

A micro-rheologiai paraméterek és meghatározói tényezőinek az oxygenizáltság és a sav-bázis viszonyok megváltozásával ható befolyásolási pontjai (tört nyilak) (Németh N. és mtsai, Clin Hemorheol Microcirc 2012;51:43-50.)

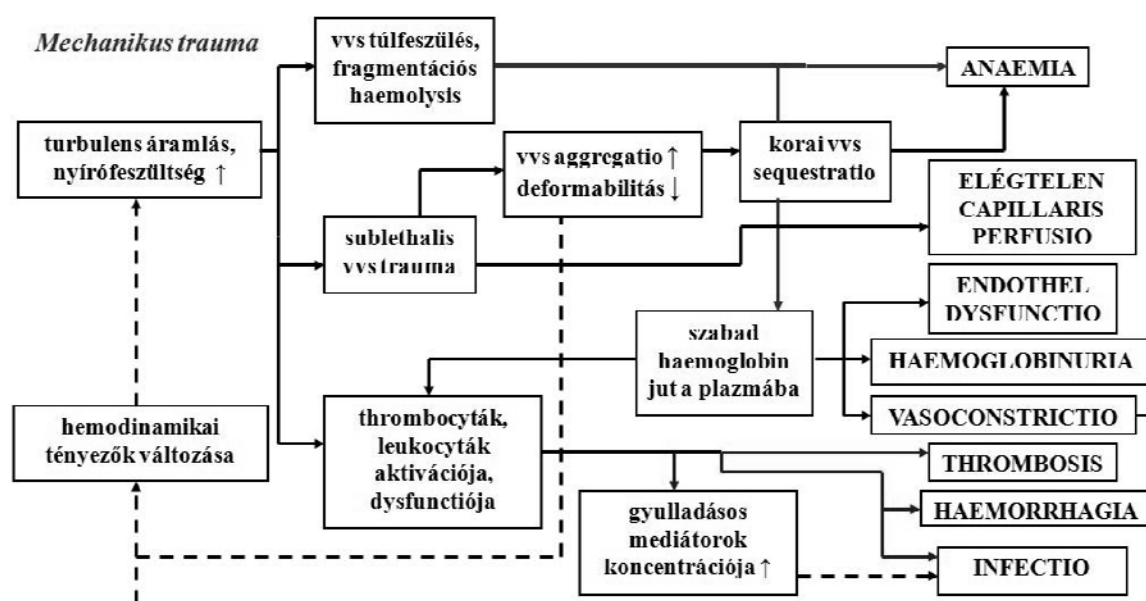
Mindemellett fontos változások köthetők az akut fázis reakciókhoz is, amelyek érintik a plazmaproteineket (fibrinogén,  $\alpha_2$ -macroglobulin, immun-globulin szint növekedés, albumin szint csökkenés), a fehérvérsejteket (számuk növekedése), a vérlemezkéket (számuk csökkenése vagy növekedése), valamint a vörösvérsejteket egyaránt (haemoconcentratio, micro-rheologiai változások).<sup>30,172</sup>

A deformabilitás kérdéskörén belül külön vizsgálható a vörösvérsejtek membránstabilitása (vagy mechanikus stabilitása), amely kifejezi, hogy a sejtekre ható erők milyen hatással vannak a deformabilitás változására. A vörösvérsejtek a keringésben eltöltött életük során állandó mechanikai hatásnak vannak kitéve a hemodinamikai erők, az igen széles tartományban változó nyírófeszültség és sebesség-gradiens viszonyok által.<sup>24,36,57,197</sup> Az extracorporalis keringés, a haemodialysis, a beültetett ér-graftok/protézisek, műbillentyűk a haemocompatibilitási fokuk ellenére mechanikus stresszt okoznak, amely jelentősen eltér a fizioiogiás körülményektől. A kérdés itt az extrafizioiogiás mechanikus stressz mértéke, a tolerálhatóság határa.<sup>50,66,103,156,219</sup> A megnövekedett nyírófeszültség, a kavitáció, a sejtek rigid falhoz való ütközése, a semi-turbulenssé (ritkán turbulenssé) váló áramlás, azok mértékétől függően egymásra kölcsönösen ható folyamatokat indít be (8. ábra).<sup>156</sup>

A mechanikus stressz mértékétől (nagyság, expozíciós idő) függően haemolysis, leukocytá és thrombocytá aktiváció, a vörösvérsejtek deformabilitásának csökkenése és aggregatiójának növekedése, a sejtek sublethalis traumája következhet be.<sup>156,186,272</sup> Sublethalis trauma során a sejtek haemolysisé még nem következik be, de a micro-rheologiai paraméterek romlása már kimutatható, ami a stressz nagyságától függően lerövidíti a vörösvérsejt élettartamát.<sup>30,156</sup>

A micro-rheologiai romlás tanulmányozásakor fontos szempont az is, hogy maga a mechanikus stressz adott mértékig (néhány Pa, rövid ideig) akár javíthatja is vörösvérsejt deformabilitási tulajdonságait, aminek kialakításában a nitrogén-monoxid (NO) játszik

szerepet. A deformabilitásra jótékonyan ható NO szintetizálódhat az endothelsejtekben, valamint magukban az erythrocytákban is.<sup>10,27,46,220,319</sup>



8. ábra

Mechanikus trauma hatására bekövetkező  
vörösvérsejt károsodáshoz vezető folyamatok és következmények  
Kameneva és Antaki alapján<sup>156</sup>

A vörösvérsejt aggregatio leginkább a postcapillaris venulák, venulák területén jön létre az ott uralkodó nyomás- és sebesség-gradiens viszonyok miatt.<sup>195,196</sup> Gyulladásos kórfolyamatokban, sepsisben, szabadgyökök okozta hatásokra az aggregatio jelentősen fokozott mértékű lehet és az arteriális oldalon is megjelenhet.<sup>24,30</sup> A fokozott vörösvérsejt aggregatio következményei magukba foglalják a tömeges áramlási szakaszban a particulum-méret növekedését, amely a vérviszkozitás emelkedéséhez vezet, jellemzően az alacsonyabb sebesség-gradiens tartományokban. A mikrokeringés területén nagyobb energiára, nagyobb nyíróerőre van szükség a disaggregatio létrejöttéhez, az arteriolákban a kifejezettebb axiális áramlás révén csökken az érfal mentén a súrlódási ellenállás, valamint csökkenhet a szöveti haematocrit, növekedhet a vascularis tónus. Mindezek eredőjeként nő az áramlási ellenállás.<sup>22,29</sup>

A bármilyen okból megváltozott rheológiájú vér a viszkozitás-változás révén hatással van az endothel felszínén létrejövő nyírófeszültség-profil kialakítására is és ezáltal számos mechanotransducer-mediálta endothel funkció eltéréséhez vezet (vascularis tónus, prothromboticus, adhaesiós, proliferációs mechanizmusok).<sup>57,58,126,127</sup> A témakörnek még számos tisztázatlan pathophysiologiai, diagnosztikai, prognosztikai és terápiás kérdései vannak, amelyek tisztázására megfelelő kísérletes modellek szükségesek. Ezekben a modellekben fontos kérdéskör az időfaktor -azaz az ischaemia időtartama- és a reverzibilis-

irreverzibilis változások meghatározása. További tisztázandó kérdéskör a lokális és szisztémás rheológiai változások megismerése és megértése, a korai postoperatív időszak (főleg az 1-3. nap) történései, valamint a változások dinamikájának elemzése a prevenciós és terápiás lehetőségek felderítésével.

Mindezek alátámasztják a micro-rheológiai paraméterek vizsgálatának jelentőségét.

## 2.6. Kihívások a kísérletes sebészeti kutatások során

A sebészeti kutatások nagy része természetüktől fogva állatkísérletes modellek bevonását jelenti. A jól definiált, állatvédelmi szempontból és laborállat-tudományi megfontolásokból korrekten felállított állatkísérletek jelentősége napjainkban is meghatározó. Számos olyan kérdés van, amely nem vizsgálható *in vitro* módszerekkel, vagy szövetkultúrákon: elegendő információ csak összetett vizsgálatokkal nyerhető szervrendszereken vagy szerveken *in vivo*. A kérdések extrapolálhatósága, azaz az eredeti klinikai kérdésre, humán vonatkozásokra való vetítése további meghatározó tényező.

A vörösvérsejt deformabilitást és a vörösvérsejt aggregációt determináló faktorok ismeretében érthető, hogy a laboratóriumi állatfajok vonatkozásában jelentős faji különbségekre kell számítani.<sup>16,60,62,253,255,289,320,342,343</sup> Ezek pontos ismeretében kell mérlegelni a mérési módszerek szükség szerinti adaptációját, módszertani standardizációját. Humán vonatkozásban a jelenleg ismert haemorheológiai mérőmódszerekre vonatkozóan elérhető egy méréstechnikai útmutató, amelynek kidolgozásában részt vehettem.<sup>17</sup> Az útmutató kitér a mintavételi és mintakezelési ajánlásokra is az egyes speciális méréstechnikai részleteken túlmenően.

Állatkísérletes vonatkozásban ilyen útmutató azonban nem áll rendelkezésünkre, ezért a faji- és nemi haemorheológiai különbségek feltárása mellett meg kell vizsgálni a kísérletek során szükséges vérminták kezelési és előkészítési részleteit is, amelyek vonatkozásában szintén számottevő faji különbségek várhatóak. Ezek komoly mértékben befolyásolhatják az eredményeket, azok értékelését és extrapolálhatóságát.

További fontos kérdés a vérvétel módja és helye. Az állatkíméleti szempontokból alapvető kérdéseken, mint a levehető vérmennyiség és az ismételhetség problémakörén túlmenően, számolni kell a keringési rendszer különböző régióiban várható eltérő haemorheológiai jellemzőkkel is, mint lehetséges arterio-venosus micro-rheológiai különbségekkel.

A változások kimutathatóságában fontos szempont a haemorheológiai mérőműszerek eltérő érzékenysége és specifikációja, mint például a sejtméret/pórusméret arány a filtrometria során, vagy a sejtek orientációja és a szuszpendáló közeg viszkozitása az elongációs index ektacytometriás vizsgálatainál.<sup>137</sup>

A mintegy másfél évtizedes kutatómunkánk során a különböző kísérletes modelleknek megfelelően több állatfajjal dolgozhattunk: egér (*Mus musculus*), patkány (*Rattus*

*norvegicus*), nyúl (*Oryctolagus cuniculus*), kutya (*Canis familiaris*), sertés (*Sus scrofa domestica*). A haemorheológiai laboratóriumi technikák ezidő alatt egyre bővülő műszerparkkal történő alkalmazása mellett valamennyi fent említett problémakörrel találkozhattunk, és megoldásukat fontos célnak éreztük, összevetve a humán vérminták kezelési elveivel is. Utóbbi tekintetében több haemorheológiai módszertani elv kidolgozásában is részt vehettünk.

E kérdéskörök részletes elemzése, a standardizációs, összehasonlító haemorheológiai vizsgálatok objektív adatokkal járulhatnak hozzá a kísérletes sebészeti modellek biztonságos megtervezéséhez, kivitelezéséhez és a kapott eredmények értékelhetőségéhez.

### 3. A KUTATÁSOK CÉLKITŰZÉSEI

A célkitűzések három fő téma köré csoportosultak.

#### 1. *Haemorheologiai módszertani összehasonlító vizsgálatok, mérés technikai standardizáció*

- 1.1. A *vérvételi lokalizáció* megválasztásának fontosságát kívántuk elemezni, a lehetséges *arterio-venosus* illetve *aorto-porto-cavalis* *micro-rheologiai* különbségek vizsgálatával Sprague-Dawley patkányokban.
- 1.2. A vörösvérsejt deformabilitás *ektacytometriás* mérés technikai adaptációja során a mintavételnél alkalmazott *anticoagulánsok* vörösvérsejt deformabilitásra kifejtett hatását kívántuk vizsgálni CD patkányok és beagle kutyák vérmintáin.
- 1.3. A *vérminták tárolási idejének és hőmérsékletének* *micro-rheologiai* hatásait vizsgáltuk CD patkányok és beagle kutyák szobahőmérsékleten és hűtéssel tárolt vérmintáin.
- 1.4. *Különböző g erővel végzett centrifugálás micro-rheologiai hatásának vizsgálata* különböző fajok (patkány, kutya, sertés és ember) vérmintáin.
- 1.5. A vörösvérsejt deformabilitás *filtrometriás* mérés technikai adaptációja során a *kismennyiségű vérminta* felhasználási lehetőségének és a *sejtméret-pórusméret arány* problémájának elemzése inbred A/J egerek, outbred CD patkányok, keverék és beagle kutyák vérmintáin.
- 1.6. Az *ektacytometriás vizsgálatoknál* a mérésekhez alkalmazott *szuszpendáló közeg viszkozitásának* hatása a deformabilitás mérés érzékenységre jelentős lehet, ezért ennek objektív összehasonlító elemzését tűztük ki célul Sprague-Dawley patkányok és beagle kutyák vérmintáin.
- 1.7. Az *ozmotikus gradiens ektacytometria* mérések standardizációja kapcsán az *alkalmazott nyírófeszültség* hatásának elemzése CD patkány, beagle kutya, sertés és humán vérmintákon, és az elongációs index – ozmolalítás görbék részletes elemzésével nyert *új leíró paraméterek kidolgozása*.

#### 2. *Faji- és nemi haemorheologiai különbségek vizsgálatai*

- 2.1. A módszertani standardok figyelembe vételével a *faji különbségek* részletes haemorheologiai vizsgálata a teljes vér- és plazma viszkozitás, haematocrit/viszkozitás arány, a vörösvérsejt deformabilitás (filtrometria, hagyományos és ozmotikus gradiens ektacytometria, membránstabilitás) és vörösvérsejt aggregatio összehasonlító elemzésével kísérleti/laboratóriumi állatfajok (egér, patkány, kutya, sertés) vérmintáin.
- 2.2. A *nemi különbségek* haemorheologiai vizsgálatát kívántuk elvégezni a teljes vér- és plazma viszkozitás, a fibrinogén koncentráció, a vörösvérsejt deformabilitás és a vörösvérsejt aggregatio tekintetében CD patkányokon és beagle kutyákon, „laboratórium-specifikus” adatbázis létrehozásával.
- 2.3. Vizsgálni kívántuk a *gonadectomia* haemorheologiai következményeit hím és nőstény Sprague-Dawley patkányokon, három hónapos utánpótlással.

### **3. Az ischaemia-reperfusio haemorheologiai és microcirculációs vonatkozásai**

- 3.1. A szisztémás és lokális haemorheologiai változások vizsgálatát tűztük ki célul végtagi-, izomlebeny-, bél- és here ischaemia-reperfusio és cerebralis hypoperfusio során CD patkány-, beagle kutya- és sertés modelleken.
- 3.2. A végtagi ischaemia-reperfusio feltételezhetően eltérő haemorheologiai hatásait kívántuk kimutatni *hím és nőstény ép*, valamint *gonadectomisált* Sprague-Dawley patkányokban.
- 3.3. Az *aorta abdominalis infra- és suprarenalis leszorítása-felengedése* kapcsán együttesen kívántuk vizsgálni a máj, a bél és a vese mikrokeringését a sav-bázis- és a micro-rheologiai paraméterek arterio-venosus változásaival patkánymodellen.
- 3.4. Perifériás érszakaszon mikrosebészeti módszerekkel kialakított *arterio-venosus ér-anastomosis* (CD patkány), és *művi ér-graft implantáció* (beagle kutya) *követéses vizsgálatát* kívántuk elvégezni a megváltozott keringési viszonyok micro-rheologiai paraméterekre kifejtett hatásának elemzése és a *lehetséges postoperatív szövődmények* kialakulásának előrejelzése céljából.

## 4. AZ ALKALMAZOTT MÓDSZEREK

Kísérleteinket az 1998. évi XXVIII., „Az állatok védelméről és kíméletéről” alkotott törvény és az Európai Unió 2010. évi EEC 63 direktíva előírásait betartva végeztük a Debreceni Egyetem Munkahelyi Állatjóléti Bizottság (DE MÁB) által nyilvántartásba vett, a Hajdú-Bihar megyei Állategészségügyi- és Élelmiszer Ellenőrzési Állomás által kiadott hatósági engedélyek alapján. Az engedélyszámok az adott kísérletek leírásánál kerülnek feltüntetésre.

A Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Tudományos Bizottság Regionális és Intézményi Kutatásetikai Bizottsága (DE OEC RKEB/IKEB) engedélyével („Haemorheológiai paraméterek változásainak vizsgálata haematológiai betegségek válogatott eseteiben“, RKEB/IKEB 3625-2012 regisztrációs számú protokollal, NSZSZ ügyiratszám: IX-R-052/00944-2-2012) egészséges önkéntesektől származó vérmintákat vizsgálhattunk egyes módszertani összehasonlító tanulmányok elvégzéséhez.

A különböző állatfajokon végzett kísérletek és vizsgálatok elvégzésekor az akkor rendelkezésre álló eszközpark, az adott kísérleti protokoll és a kísérleti/laboratóriumi állat vérvételi lehetőségeinek sajátossága szerinti kiterjesztésben kerültek meghatározásra az egyes paraméterek.

### 4.1. Haemorheológiai módszerek

#### 4.1.1. Kapilláris viszkozimetria

A vér és a plazma viszkozitását Hevimet-40 kapilláris viszkoziméterrel (Hemorex Kft., Budapest) végeztük (9. ábra). A készülék magyar technikai fejlesztés (Dr. Mátrai Árpád, Dr. Fendler Kornél) és továbbfejlesztés (Dr. Kollár Lajos, Kenedi István) eredménye. A rendszer két temperált olajfürdőbe (37 °C) merülő kapilláris csőből áll (hossz: 500 mm, belső átmérő: 0,6 mm), amelyek mentén 40-40 pár fotodetektor található. A nyomás-gradiens a mintafolyadék saját hidrosztatikus nyomásából ered. A folyadék (~0,6-0,7 ml anticoagulált vérminta vagy plazma) kapillárisba töltését követően a készülék opto-elektronikusan rögzíti a folyadékoszlop tetején képződő meniscus helyzet-idő diagramját a felülről érkező és róla visszaverődő fény helyzetének detektálásával. Az adatokból a csatlakozó komputer kiszámítja a kapilláris belső fala és a minta között keletkező sebesség-gradiens értéket, amelyekhez hozzárendeli az aktuális hidrosztatikai nyomásból eredő nyírófeszültséget.<sup>43</sup> E két származtatott paraméter hányadosai adják az áramlás során számítható dinamikus viszkozitás értéket newtoni és nem-newtoni (Casson-típusú folyási görbe) folyadékokra nézve, utóbbit a sebesség-gradiens függvényében megadva ( $10\text{-}240\text{ s}^{-1}$ ) (10. ábra).

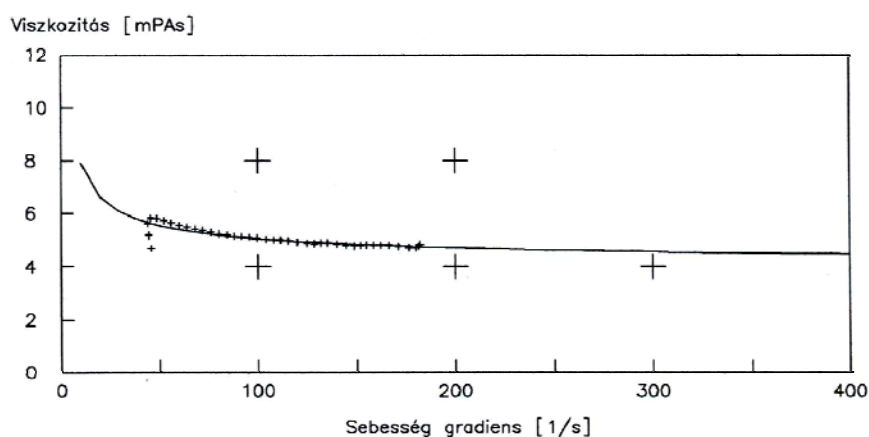
A teljes vér viszkozitásának jellemzésére a hazai és nemzetközi konvencióknak megfelelően leggyakrabban a  $90\text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért értékeket [mPas] használtuk.<sup>33</sup> A haematocrit/viszkozitás adatok elemzésével foglalkozó tanulmányunkban felhasználtuk a  $10\text{ s}^{-1}$  és a  $200\text{ s}^{-1}$  értékeknél nyert adatokat is.





**9. ábra**

A Hevimet-40 kapilláris viszkoziméter fotója



**10. ábra**

A teljes vérre jellemző (Casson-típusú) reprezentatív folyási görbe, a viszkozitás adatok sebesség-gradiens függvényében történő ábrázolásával, a szoftver által illesztett görbével (mérési adatsor alapján)

A vérviszkozitás haematocrit-függő, ezért ahol valamennyi szükséges paraméter rendelkezésre állt, a vérviszkozitást Mátrai és munkatársai által ajánlott matematikai formula segítségével 40%-os haematocritra korrigált formában is megadtuk:

$$\frac{TVV_{40\%}}{PV} = \left( \frac{TVV_{Htc}}{PV} \right)^{\frac{40\%}{Htc}}$$

ahol  $TVV_{40\%}$  = a 40%-os haematocritra korrigált teljes vér viszkozitás;  $TVV_{Htc}$  = az adott haematocritú minta teljes vér viszkozitása;  $PV$  = a minta plazma viszkozitása;  $Htc$  = a minta haematocritja, amely képletből a  $TVV_{40\%}$  kifejezhető.<sup>207</sup>

#### 4.1.2. Filtrometria

A filtrometriás méréseket Carat FT-1 típusú filtrométerrel végeztük (Carat Diagnosztika Kft., Budapest), amely a St. George's Filtrometer hazai továbbfejlesztésű változata (11. ábra).<sup>92</sup> A berendezés vízszintes áramlási terét egy függőlegesen elhelyezett Nuclepore<sup>®</sup> polycarbonat anyagú szűrőmembrán két részre osztja: a szűrő előtti és utáni térre. A töltőcsövön keresztül folyadékot (először kalibrációs oldat, majd sejtsuszpenzió) injektálunk a szűrőkamrába és a mérőcsőbe. A szűrési folyamat és a mérés a csap megnyitásával indítható, aminek hatására a  $\Delta p$  hidrosztatikai nyomáskülönbség (általában 4 vízcm) hatására a folyadékáramlás megindul a mérőcsőből a szűrőmembránon keresztül a tartály felé. A folyadékoszlop meniscusának fotodetektorok előtt való elhaladása eredményezi a helyzet-idő adatokat.<sup>43,92</sup> A mérési folyamat első fázisaként kalibrációt végzünk, leggyakrabban pufferelt sóoldattal (normál foszfát puffer, phosphate buffered saline, PBS), majd a mérendő sejtsuszpenziót töltjük a készülékbe és megindítjuk a mérést. A sejtsuszpenzió közege szintén PBS, így a kalibrációs méréshez viszonyított (relatív) filtrációs sebesség meghatározható. A sejtsuszpenzió átszűrődése alatt a relatív filtrációs sebesség a szűrő pórusainak fokozatos, progresszív eltömődése miatt lineárisan csökken. Ennek következtében az egymást követő 20  $\mu$ l térfogatú folyadékszegmensek relatív filtrációs sebességéből lineáris extrapolációval meghatározható a kezdeti relatív filtrációs sebesség (initial relative filtration rate, IRFR).<sup>43</sup> A vörösvérsejt szuszpenzió haematocritjának ismeretében a relatív sejt-tranzitidő (relative cell transit time, RCTT) kifejezhető:

$$RCTT = \frac{1}{\frac{IRFR}{Htc} - 1} + 1$$



**11. ábra**  
A Carat FT-1 filtrométer fotója

A standardok szerint a méréseket a vérvételtől számított 2 órán belül,  $22 \pm 1$  °C-os környezetben, 5% haematocritú vörösvérsejt-PBS szuszpenzió (ozmolalitás:  $295 \pm 5$  mOsm/kg; pH: 7,4), 4 vízcm filtrációs nyomás mellett, 5  $\mu$ m pórusátmérőjű Nuclepore<sup>®</sup> filter alkalmazásával kell végezni.<sup>33,43</sup> A mérések kivitelezéséhez a vörösvérsejt-PBS szuszpenzió

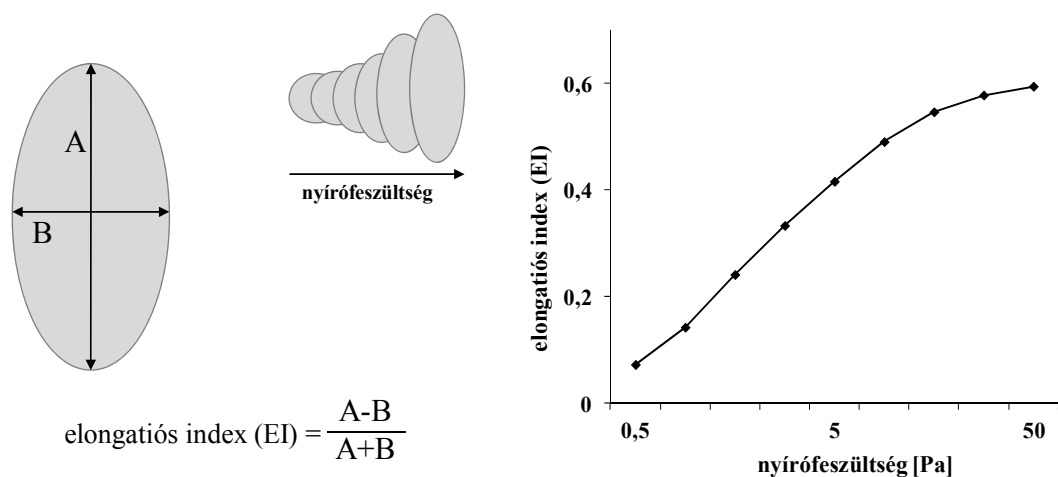
készítésénél (többszöri centrifugálás, PBS-ben történő mosás) mechanikusan és akár ozmotikusan is sérülhetnek a sejtek. Standardizálási nehézséget jelent a sejtméret-pórusméret arány kérdése,<sup>18,265</sup> amely a műszer érzékenységét is jelentősen meghatározza. A haematocrit mellett fontos befolyásoló tényező még a filtereken lévő pórusok száma, mérete és esetleges éles széle, amely a sejtek mechanikai sérülését okozhatja, a szuszpenzió ozmolaritása és pH-ja.<sup>174,191,194,198,232,263,275</sup> A mintaelőkészítés során nem lehet teljesen leukocytá- és thrombocytá-mentes szuszpenziót készíteni, így ezek befolyásoló hatásával (filtrációs sebesség csökkenés, pórus-eltömődés) számolni kell.<sup>61,64,206,232</sup> A metodika különböző laboratóriumi állatfajokra történő adaptációja során fontos kérdés továbbá a mérésekhez szükséges mintamennyiség. A filtrométerbe való betöltéshez, két- vagy háromszori méréshez szükséges mennyiségű standard 5%-os vörösvérsejt-PBS szuszpenzió elkészítéséhez ugyanis mintegy 2-2,5 ml vér vételére van szükség.

#### 4.1.3. Hagyományos és ozmotikus gradiens ektacytometria

A vörösvérsejt deformabilitás ektacytometriás (lézer diffrakciós ektacytometria) elven való mérése azon alapszik, hogy a vörösvérsejtek nyíróerő hatására való elongálódása során a vörösvérsejt-szuszpendáló közeg határáról az eltérő denzitás miatt visszaverődő lézernyalábok az elnyúlás mértékében szóródnak. A rögzített diffraktogrammból kifejezhető az elnyúlási, azaz elongatiós index (EI), amelyet a nyírófeszültség (shear stress, SS [Pa]) függvényében ábrázolnak (12. ábra). Adott nyírófeszültségnél a magasabb EI értékek jobb elnyújthatóságot, jobb deformabilitást tükröznek.<sup>17,34, 137,138</sup>

A módszer nagy előnye, hogy a vörösvérsejt deformabilitás meghatározásához igen kis mennyiségű vér szükséges (5-6  $\mu$ l). A mérésekhez az antikoagulált vérmintát (5-6  $\mu$ l natív vér, K<sub>3</sub>-EDTA 1,5-1,8 mg/ml) magas viszkozitású (általában 20 mPas feletti, de preferáltan 30 mPas körüli) makromolekula vagy polimer oldatban (0,6-1 ml, 70 kDa dextrán vagy 360 kDa polyvinyl-pyrrolidon, PVP; pH=7,3-7,4) szuszpendáljuk közvetlenül a mérések előtt. Az oldat magas viszkozitása szükséges a sejtek erőhatás irányába való orientációjához és a nyíróerő membránra való áttevődéséhez, az elongatióhoz.<sup>111,112</sup> Ellenkező esetben, az ún. „tank tread” mozgás hiányában a sejtek csak pördülnének a mintában torzult diffraktogramot, negatív vagy zero értékű EI-t eredményezve.<sup>137</sup> Ismert ugyanakkor az is, hogy a vörösvérsejtek viszkózus dextrán vagy PVP oldatban alakváltozáson is áteshetnek, PVP-ben kettisével összekapcsolódhatnak („teniszlabda” forma).<sup>116,233</sup>

Az ektacytométerek különböző felépítésűek lehetnek mérőkamrájuk geometriája és mérési technikájuk szerint.<sup>137</sup> A nyírófeszültség generálására többféle módszert alkalmazhatnak, mint a rotációs elven működő párhuzamos korong és a Couette-rendszerek, vagy a vakuum-generált áramlást alkalmazó slit-flow rendszer. Couette-rendszerű ektacytometer a laser assisted rotational cell analyzer (LORCA), míg slit-flow elven a Rheoscan D-200 ektacytometer működik.<sup>137,138,287</sup>

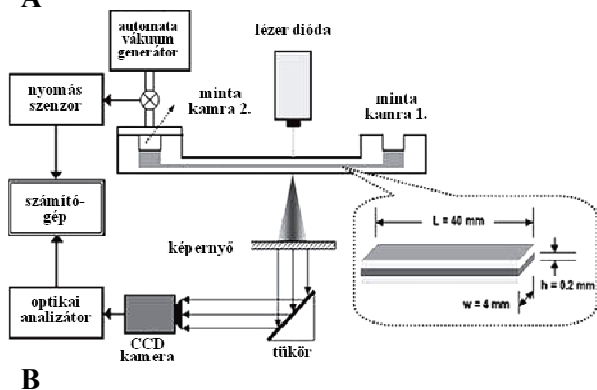


12. ábra

Az ektacytometriás mérések során nyert diffraktogramm elemzésével nyert elongatiós index meghatározása és ábrázolása a nyírófeszültség függvényében



A



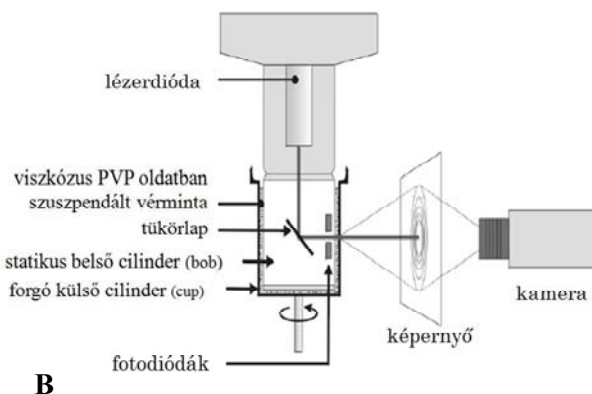
B

13. ábra

A Rheoscan-D200 slit-flow ektacytometer (A) és működési elve (B).<sup>137,287</sup>



A



B

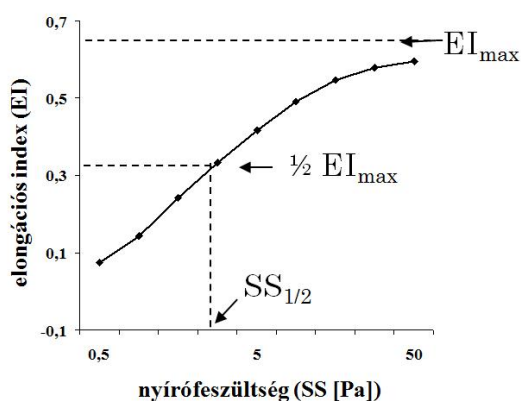
14. ábra

A LoRRca MaxSis Osmoscan rotációs ektacytometer (A) és működési elve (B).<sup>137,138</sup>

A *Rheoscan-D200 slit-flow ektacytometerrel* (Sewon Meditech Inc., Korea) történő mérésekhez egyszerűhasználatos, áttetsző műanyagból készült mérőkamrára van szükség, amelyben két hengeres tartályt 200-220  $\mu\text{m}$  magasságú, 40 mm hosszúságú rés köt össze. Az egyik tartály gumidugóval fedett. A mintát (6  $\mu\text{l}$  vér 600  $\mu\text{l}$  szuszpenziós oldatban) a fedetlen tartályba kell tölteni. A készülék a gumidugót tűvel átszúrja, majd a tűn keresztül a légköri nyomáshoz viszonyítva vákuumot generál néhány másodpercre, aminek hatására a viszkozus minta egy része áthalad a résen kezdetben gyors, majd a vákuum megszűnésével lassuló áramlási sebességgel. Az áramlási csatornára vetül a lézer, a túloldalon CCD kamera rögzíti a diffraktogramot, amelyet a fent ismertetett módon analizál (13. ábra). A nyírófeszültség kiszámítása (0,5-20 Pa tartományban) a nyomásértékekből és a rés geometriájából adódik (ezt minden mérés kezdetén be kell táplálni a programba). A minta viszkozitás adataira itt nincs szükség a kalkulációhoz. A készülék nem temperált.<sup>287</sup>

A *LoRRca MaxSis Omoscan rotációs ektacytometer* (Mechatronics BV, Hollandia) működési elvét a 14. ábra mutatja. A mérések során a mintát (5  $\mu\text{l}$  vér 1 ml szuszpenziós oldatban) a statikus belső (bob) és a forgó külső (cup) cylinder közötti térbe (szélesség: 0,3 mm) töltjük. A cup meghatározott szögsebességgel forgómozgást végez, eközben a mintára lézernyaláb vetül. A nyírófeszültség (beállítható 0,3-75 Pa között, leggyakrabban: 0,53-30 Pa tartományban) a forgás sebességéből, a Couette-rendszer geometriájából (rés köpeny) és a minta viszkozitásából számítható ki. Ehhez a mérések elején meg kell adni az oldat viszkozitását. A készülék temperált, a mérések 37 °C-on történnek.

Az elongációs index (EI) – nyírófeszültség (SS) adatok összehasonlítása történhet egy adott nyírófeszültség értéknél mért EI megadásával, vagy a teljes EI-SS görbe parametrizálásával. Ehhez a Lineweaver-Burke (L-B) féle analízist használtuk (15. ábra).



**15. ábra**

A maximális elongációs index ( $EI_{\max}$ ) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$  [Pa]) értelmezése az ektacytometriás mérések során nyert görbék parametrizálásaként<sup>19</sup>

A kalkuláció során meghatározásra került a maximális elongációs index ( $EI_{\max}$ ) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség (shear stress, SS) érték ( $SS_{1/2}$  [Pa]) az alábbi képlet alapján:<sup>19,21</sup>

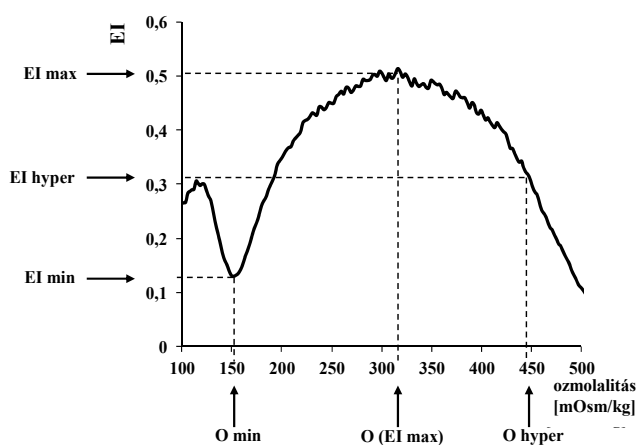
$$1/EI = SS_{1/2}/EI_{\max} \times 1/SS + 1/EI_{\max}$$

A reciprokértékek miatt az 1 Pa alatti adatok gyakran torzítanak, az illesztett görbe eltérő meredekségéhez vezet, ezért az értékeléshez használt nyírófeszültség tartományt

általában 0,95-30 Pa között értelmeztük. Deformabilitás romlást jelez az  $EI_{\max}$  csökkenése és az  $SS_{1/2}$  emelkedése. További elemzéshez Az  $EI_{\max}$  és az  $SS_{1/2}$  egymáshoz viszonyított aránya is használható.<sup>21</sup>

A kereskedelmi forgalomban elérhető különböző geometriájú ektacytométerek (Rheodyn SSD rotációs-, LORCA-, RheoScan-D slit flow ektacytometer) összehasonlító elemzését és az elongációs index – nyírófeszültség görbék parametrizálásának standardizációs összehasonlítását nemzetközi munkacsoportban végeztük. A mérések ismételhetősége mindhárom készüléknél elfogadható volt (variációs koefficiens, CV <5%) 1 Pa nyírófeszültség felett. Ez alatt (0,5 Pa) csak a LORCA mérések CV% értéke maradt 5% alatt. A vörösvérsejtek 0,001-0,005% glutáraldehiddel való elegyítésével, a rigid és ép sejtek 40%-os mixturájával, vagy 48 °C-on 9 percig tartó hőkezeléssel előidézett deformabilitás romlást mindhárom készülék jó érzékenységgel mutatta ki. A legmagasabb standardizált differencia értékeket a LORCA és a Rheoscan-D készülékek adták. (A megállapítások alapjául szolgáló közlemények: (1) Baskurt OK, Hardeman MR, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, Németh N, Shin S, Alexy T, Meiselman HJ, Biorheology 2009;46:251-264.; (2) Baskurt OK, Hardeman MR, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, Németh N, Shin S, Alexy T, Meiselman HJ, Scan J Clin Lab Invest 2009;69:777-788.)

A legújabb LORCA készülékkel végezhető *ozmotikus gradiens ektacytometria (osmoscan) mérésekhez* 250 µl mennyiségű vért szuszpendálunk 5 ml PVP oldatban. A módszer során az EI mérése állandó nyírófeszültség mellett (általában 30 Pa) történik, miközben a szuszpendáló közeg ozmolalitása változik. Ezt a vér-PVP szuszpenzió, valamint 0 és 500 mOsm/kg ozmolalitású PVP oldat folyamatos adagolásával éri el a készülék.



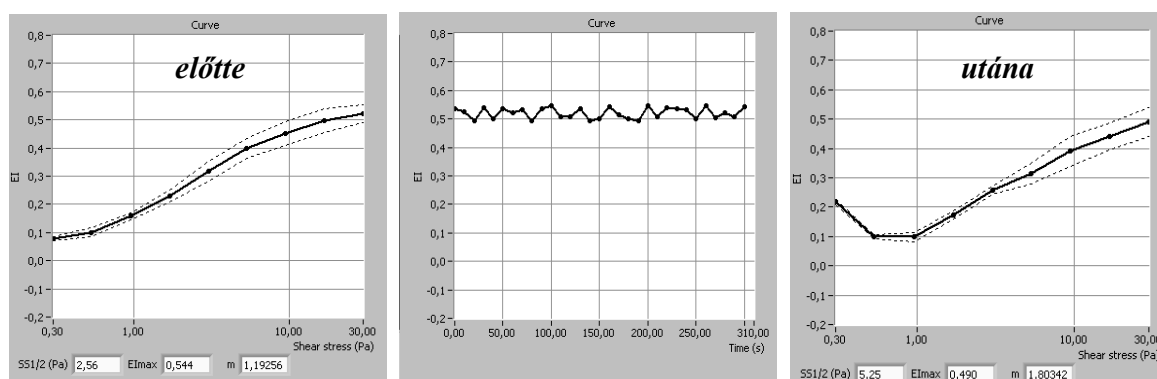
**16. ábra**  
Ozmotikus gradiens ektacytometria (osmoscan) mérés során nyert elongációs index (EI) – ozmolalitás [mOsm/kg] görbe és nevezetes paraméterei.

Az így kapott jellegzetes elongációs index-ozmolalitás görbék (16. ábra) az alábbi paraméterekkel jellemezhetők:<sup>69,137</sup>

- maximális EI ( $EI_{\max}$ ) – ami nem azonos az L-B analízissel nyert  $EI_{\max}$  értékkel
- az  $EI_{\max}$  felét adó EI érték a hyperozmolaris irányban ( $EI_{\text{hyper}}$ )
- minimális EI érték a hypoozmolaris irányban ( $EI_{\min}$ )
- az ezekhez tartozó ozmolalitás értékek:  $O(EI_{\max})$ ,  $O_{\text{hyper}}$ ,  $O_{EI_{\min}}$  [mOsm/kg]
- a görbe alatti területből számolt Area

#### 4.1.4. Vörösvérsejt membrán (mechanikus) stabilitási teszt

A *membrán stabilitás (mechanikus stabilitás) teszt* során két hagyományos deformabilitás mérés történik, amelyek között adott nagyságú és időtartamú nyírófeszültséggel zajlik a mechanikus stressz előidézése (17. ábra).<sup>137</sup> Az expozíciós idő és a nyírófeszültség nagysága változtatható. A kapott EI-SS görbék analízise a fentiekben ismertetett módon történik. Kiszámítottuk továbbá a mechanikus stressz előtti és utáni értékek egymáshoz viszonyított arányát is.



17. ábra

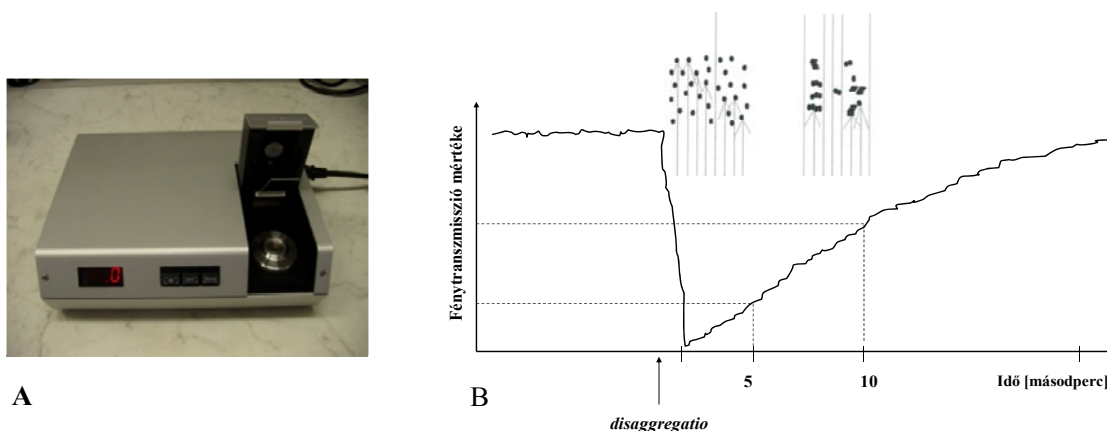
A membránstabilitás teszt alkalmazása során kapott reprezentatív kép: adott időtartamig meghatározott nyírófeszültséggel alkalmazott mechanikus stressz során monitorozott elongációs index értékek (középen), valamint a stressz alkalmazása előtt és után meghatározott elongációs index – nyírófeszültség görbék.

#### 4.1.5. Fénytranszmissziós aggregometria

A Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer (Myrenne GmbH, Németország) fénytranszmissziós elven, Schmid-Schönbein által leírt módszer szerint működik (18. ábra).<sup>137,276</sup> A készülék vérmintát befogadó része egy 2°-os csiszolt üveg lencséből és egy ráhajtható üveg tárgylemezből áll (cone-plate rendszer). A 20-30 µl-nyi anticoagulált (K<sub>3</sub>-EDTA, 1,5-1,8 mg/ml) vérmintát a lencse közepére cseppentjük, majd a tárgylemez ráhajtásával a minta kör alakban szétterül, széle felé növekvő vastagságban a lencse domborulata mentén. A tárgylemez felett egy infravörös dióda, a lencse alatt egy infravörös detektor helyezkedik el. A lencse egy rotor által forgatható egységbe van ágyazva, amely meghatározott szögsebességgel forgómozgást végez 600 s<sup>-1</sup> sebesség-gradienst generálva a mintára, amelyben így a vörösvérsejtek diszaggregálódnak, a minta fénytranszmissziója csökken. Amint a rotor leáll, a sejtek aggregálódni kezdenek, köztük a plazma fázis szélessége nő, így a fényáteresztőképesség is fokozódik. A diszaggregált állapothoz képest a folyamat 5. vagy 10. másodpercében meghatározott intenzitás adatokból származtathatóak az aggregációs index értékek.

A mérésekhez két üzemmód választható: amennyiben a rotor teljesen leáll, azaz a sebesség-gradiens 0 s<sup>-1</sup>, M módról, ha lassan forog 3 s<sup>-1</sup> sebesség-gradiens mellett, M1 módról

beszélünk. Így összesen négy index paraméter határozható meg: M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s. Fokozott vörösvérsejt aggregatio esetén ezek az index paraméterek növekednek. A készülék nem temperált.<sup>25,137</sup>



18. ábra

A Myrenne MA-1 erythrocyta aggregométer (A) és a vörösvérsejt aggregatio révén a minta változó infravörös-fénytranszmisszióján alapuló működési elve (B)

#### 4.1.6. Syllectometrián alapuló aggregometria

A LORCA készülékkel történő mérések az aggregálódó vörösvérsejteket tartalmazó vérmintáról visszaverődő lézer szóródásának elemzésén alapul (syllectometria) (19. ábra). A mérőkamrába 1 ml anticoagulált vérmintát kell tölteni. Betöltés előtt érdemes a mintát pár másodpercig oxigenizálni a minta átforgatásával, hogy az adott hullámhosszú (670 nm) lézer visszaverődése jobban kimutatható legyen. A mérések 37 °C-on történnek. A külső henger (cup) forgómozgásával (beállítható, rutinszerűen: 10 s, 500 s<sup>-1</sup>) a mintában lévő vörösvérsejtek disaggregálódnak, majd a rotor leállításával aggregálódni kezdenek. A statikus hengerből eredő lézer mintáról visszaverődő nyalábjait szintén a belső cylinderbe épített két fotodióda érzékeli. A folyamat mintegy 120 másodpercig követhető, jellegzetes intenzitás-idő görbét rögzítve (19. ábra).<sup>25,136,137</sup>

A készülék által meghatározott legfontosabb paraméterek:

- *aggregációs index (AI, [%])*: az intenzitásmaximum megjelenésétől a 10. másodpercig visszaverődő fény intenzitásváltozásából ( $I_{sc_{top}} - I_{sc_0}$ ) származó görbe feletti terület (A) görbe feletti és alatti terület (B) összegéhez viszonyított aránya:  $AI = A/(A+B)$ .
- *amplitudo (Amp, [au])*: a maximális és minimális intenzitás értékek közötti különbség a vizsgált 120 másodperc során.
- *fél-amplitudo idő ( $t_{1/2}$ , [s])*: a maximális és minimális intenzitás értékek közötti különbség felének eléréséhez szükséges idő a maximális intenzitás értékek megjelenésétől.

Fokozott vörösvérsejt aggregatio esetén az AI, az Amp növekszik, a  $t_{1/2}$  általában csökken.

A kereskedelmi forgalomban elérhető különböző geometriájú és működési elvű, vörösvérsejt aggregatio meghatározására szolgáló készülékek (Myrenne MA-1 aggregometer,





A laktát koncentráció (mmol/l) és a vér pH meghatározására vérgáz analizátor automatát használtunk (ABL555 Radiometer Copenhagen, Denmark). A vérmintát zárt rendszerben közvetlenül a készülékbe fecskendeztük, kerülve a levegővel való közvetlen érintkezést.

A vér coagulációs időparaméterek, mint a prothrombin idő (PI [s]), az aktivált parciális thromboplastin idő (APTI [s]), továbbá a fibrinogén koncentráció (Fbg [g/dl]) meghatározása Sysmex CA-500 automata coagulometerrel történt (TOA Medical Electronics Co., Japán).

#### 4.3. Hemodinamikai és mikrokeringési vizsgálatok

Adott kísérleteknél a szívfrekvencia [1/min] és az artériás középnyomás [Hgmm] mérését hemodinamikai monitorozó rendszerrel végeztük (Haemosys konfiguráció, Experimetria Kft.) (20. ábra). A rendszerrel a rectalis hőmérsékletet is mértük.



**20. ábra**

A hemodinamikai és mikrokeringési vizsgálatokra szolgáló monitorozó rendszer használat közben.

A mikrokeringés vizsgálatára laser Doppler szöveti áramlásmérőt használtunk (LD-01 Laser Doppler Tissue Flowmeter Experimetria Kft.; standard pencil probe MNP100XP, Oxford Optronix Ltd., UK). A készülék relatív áramlási egységet mér (blood flux unit, BFU), ami a mozgó vörösvérsejtekről visszaverődő lézer (hullámhossz =  $780 \text{ nm} \pm 10 \text{ nm}$ , energia a mérőfej végénél =  $0,5\text{-}1,0 \text{ mW}$ , LD szignál =  $10 \text{ Hz} - 19 \text{ kHz}$ ) hullámhossz-változásának detektálásán alapszik. A transzmitter száloptikán keresztül kibocsátott laser fénynyaláb visszaverődik vagy részlegesen elnyelődik a vizsgált szövetekben, mintegy  $0,5\text{-}1 \text{ mm}$  mélységben. A mozgásban lévő vörösvérsejtekről szóródó fénynyaláb hullámhosszában változás történik (Doppler-shift), amelyet a mérőfejben egy fogadó száloptika érzékel. Az elektronikus jellé alakított információt szoftver analizálja tovább.

A bekövetkezett változás nagysága arányos a vizsgált régióban lévő mozgó vörösvérsejtek számával és sebességével, de nem függ a mozgásuk irányától.<sup>295</sup>

A laser Doppler szöveti áramlásmérés egyszerű, non-invazív mérőmódszer. A mérést azonban számos tényező befolyásolhatja: a vizsgált szöveti felszín száradása, kihűlése, mozgás, remegés, a környezet hirtelen hőmérsékletváltozása, erősebb légáramlás, a műszer nem megfelelő stabilizálása, az optikai szál megfeszülése, vagy túl szoros érintkezés a szövetfelszínnel.<sup>182,242</sup> A mérési körülmények standardizálása ezért nagy jelentőséggel bír.

A mérések során a jel stabilizálódása után a BFU adatokat off-line elemeztük 20 másodperces stabil periódusok átlagértékeit használva.

## 5. HAEMORHEOLOGIAI MÓDSZERTANI ÖSSZEHAONLÍTÓ VIZSGÁLATOK, MÉRÉSTECHNIKAI STANDARDIZÁCIÓ

A célkitűzések első témakörének megfelelően ebben a fejezetben különböző mintavételi, mintakezelési és méréstechnikai összehasonlító vizsgálatok eredményei kerülnek bemutatásra az elmúlt bő egy évtized vonatkozó munkáiból. A témák megjelenítése egymást követő logikai sorrendben, s nem az egyes kísérletek kivitelezésének időbenisége szerint történik. Így az időközben is folyamatosan bővülő eszközpark és a felmerülő újabb és újabb méréstechnikai szempontok magyarázzák, hogy nem minden összehasonlító tanulmányban használhattuk a ma már rendelkezésre álló valamennyi mérőmódszert és nem végezhetünk szélesebb körű faji összehasonlítást a kutatásaink során alkalmazott állatfajok és humán vérminták tekintetében, kivéve az utóbbi esztendő munkáit. Az eredményeket tartalmazó közelmények az azokat alapul vevő egyes fejezetek végén feltüntetésre kerültek.

### 5.1. A vérvétel helyének jelentősége (arterio-venosus és aorto-porto-cavalis különbségek)

*Háttér, célkitűzés:*

Klinikai vizsgálatok igazolták a macro-rheologiai paraméterek arterio-venosus különbségeit vascularis kórképekben,<sup>113,134,227</sup> a micro-rheologiai változókról azonban kevés klinikai vagy experimentális adat ismert. Az állatkísérletes modellekben gyakran van szükség különböző anatómiai lokalizációjú erekből történő vérvételekre a lokális és szisztémás rheologiai változások vizsgálataihoz, többek között ischaemia-reperfusio során,<sup>38,118,163,209,210</sup> amikor a kirekesztett régióban pangó vérben olyan metabolikus változások jöhetnek létre (2.5. fejezet), amelyek reperfusiókor az egész szervezetre kifejthetik hatásukat.<sup>30,54,133,231,305</sup>

Számos módszertani tanulmány utal arra, hogy a vér oxigenizáltsága befolyásolhatja a vizsgált haemorheologiai paramétereket, amely így fontos méréstechnikai standardizációs szempont.<sup>17,138,268,321</sup> A fiziológiás parciális vérgáz értékek különbségei jól ismertek, azonban a micro-rheologiai paraméterek általános arterio-venosus illetve aorto-porto-cavalis különbsége még nem tisztázott teljesen.

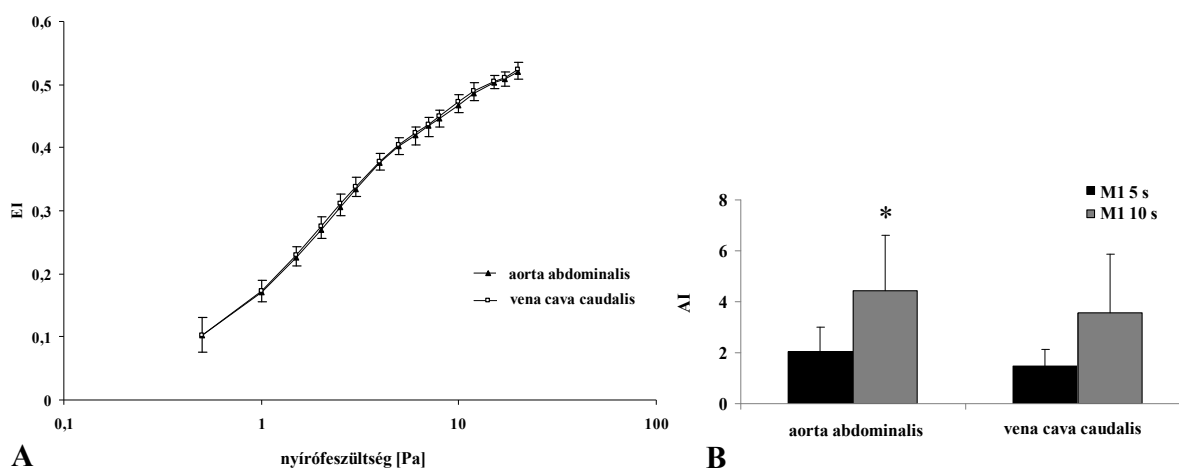
A kérdéskör vizsgálatára két tanulmányt végeztünk, különböző mérőműszerekkel.

*Anyagok és módszerek 1:*

Első kísérletünkben (engedélyszám: 37/2007., 6/2008. DE MÁB) 12 nőstény CD patkánytól (testsúly: 328,91±53,68 g) altatásban (60 mg/kg Na-thiopental, i.p.) 26 G-s tűvel pungálva vért vettünk párhuzamosan az aorta abdominalis-ból és a vena cava caudalis-ból Na-EDTA-t (1,5 mg/ml) tartalmazó fecskendőkbe. A vérgáz paraméterek ( $p\text{CO}_2$ ,  $p\text{O}_2$  [Hgmm]) és a vér pH mellett (ABL555 automata) az általános haematologiai paraméterek (Sysmex F-800 microcell counter), a vörösvérsejt deformabilitás (RheoScan-D200 slit-flow ektacytometer; PVP viszkozitás: 30,51 mPas, ozmolalitás = 327 mOsm/kg; pH = 7,37) és a vörösvérsejt aggregatio (Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer) került meghatározásra. A mintákat a lehető legrövidebb időn belül lemértük (teljes *in vitro* idő: <30 perc).

### Eredmények 1:

Az élettani viszonyoknak megfelelően a  $pO_2$  értékek az aortából, a  $pCO_2$  értékek a vena cava caudalis-ból nyert vérmintákban voltak magasabbak ( $p < 0,001$ ), míg a vér pH értékek nem mutattak jelentős aorto-cavalis különbséget. A fehérvérsejtszám, a vörösvérsejtszám és a haematocrit értékek nem szignifikáns mértékben, de magasabbak voltak a venás vérmintákban. A 3, 5, 10 és 20 Pa nyírófeszültség mellett mért vörösvérsejt elongációs index értékek a venás vérmintákban kismértékben magasabbak voltak az artériás adatokhoz képest (21. ábra, A). A vörösvérsejt aggregációs index értékek az artériás vérmintákban voltak magasabbak (M1 5 s,  $p = 0,003$ ) (21. ábra, B).



**21. ábra**

A vörösvérsejt deformabilitást jellemző elongációs index (EI) a nyírófeszültség függvényében (A), valamint M1 5 s és M1 10 s aggregációs index értékek (B)

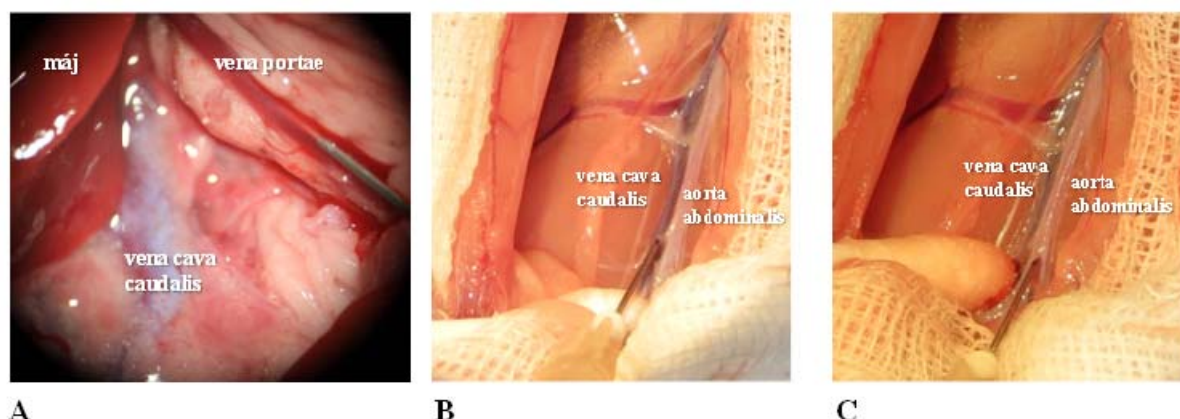
CD patkányok aorta abdominalis-ából és a vena cava caudalis-ából nyert vérmintákban átlag  $\pm$  S.D.,  $n=12$ , \* $p < 0,05$  vs. vena cava caudalis (Student-féle t-test/Mann-Whitney RS teszt) (Rheoscan-D slit flow ektacytometer, Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer)

### Anyagok és módszerek 2:

A másik tanulmányban (engedélyszám: 37/2007. DEMÁB, 6/2008. DEMÁB), miután beszerzésre kerülhetett a LoRRCa MaxSis Osmoscan készülék, pontosabb és szélesebb körű analízisre nyílt lehetőség.

A kísérletben 13 Sprague-Dawley patkányt (Janvier Co., Franciaország) használtunk fel: 8 hím ( $381,5 \pm 13,4$  g) és 5 nőstény ( $292,2 \pm 20,9$  g) nemi eloszlásban. Általános anaesthesiában (Na-thiopental 60 mg/kg, i.p.) median laparotomiát végeztünk és atraumatikus preparálási technika alkalmazásával feltártuk a vena portae-t, valamint az aorta abdominalis és a vena cava caudalis infrarenalis szakaszát.

A vérvételekhez ebben a kísérletben is 26 G-s tűhöz csatlakoztatott anticoagulanst (Na-EDTA, 1,5 mg/ml) tartalmazó fecskendőt használtunk. A vérminták vétele a következő sorrendnek megfelelően történt: 1. vena portae, 2. vena cava caudalis, 3. aorta abdominalis. Minden érből 0,6-0,8 ml mennyiségű vért vettünk (22. ábra). A mintákat a lehető legrövidebb időn belül lemértük (teljes *in vitro* idő:  $< 30$  perc).



22. ábra

A vena portae (A, nagyítás: 6x), a vena cava caudalis (B) és az aorta abdominalis (C) punkciója a vérvételek sorrendiségének megfelelően (saját tanszéki fotóanyag)

### Eredmények 2:

A IV. táblázat mutatja be a laktát koncentráció, vérgáz adatok, a haematologiai, vörösvérsejt deformabilitási, ozmotikus gradiens ektacytometriás és aggregációs paraméterek aorto-porto-cavalis különbségeit.

A laktát koncentráció kismértékben, de szignifikánsan magasabb volt az artériás vérmintákban (vs. szisztémás vénás vérminták:  $p=0,001$ ; vs. portalis vénás vérminták:  $p=0,064$ ). Vér pH értéke magasabb volt az artériás vérmintákban (vs. szisztémás vénás vérminták:  $p=0,002$ ; vs. portalis vénás vérminták  $p=0,008$ ), amíg a szisztémás vénás és a portalis vénás mintákban majdnem azonosak voltak.

A vérgáz paraméterek az élettanilag vártak szerint alakultak. A  $pO_2$  az artériás vérben volt a legmagasabb (vs. szisztémás vénás vérminták:  $p<0,001$ ; és vs. portalis vénás vérminták:  $p<0,001$ ), míg a  $pCO_2$  a szisztémás vénás vérben (vs. szisztémás vénás vérminta:  $p=0,028$ ; és vs. portalis vénás vérminta:  $p=0,063$ ). A fehérvérsejtszám kisebb volt az artériás vérmintákban, mint a szisztémás vénás ( $p=0,013$ ) és portalis vénás vérmintákban ( $p=0,009$ ). Bár nem szignifikánsan, de a vörösvérsejtszám és a haematocrit értékei kismértékben magasabbak voltak a szisztémás és a portalis vénás vérmintákban. Az MCV nem különbözött jelentősen, de a vénás mintákban kissé alacsonyabbnak bizonyult. A thrombocyta szám kismértékben nagyobb volt a szisztémás vénás és portalis vénás vérmintákban. A többi vizsgált haematologiai paraméter értékeiben nem volt számottevő különbség.

A 23. ábra A részén az artériás, szisztémás vénás és portalis vénás vérminták elongációs index értékei láthatóak a nyírófeszültség függvényében. A legmagasabb EI értékeket a szisztémás vénás vérmintákban, a legalacsonyabbat az artériás vérmintákban mértük, míg a portalis vénás értékek a kettő közé estek. Az EI-SS görbék összehasonlító adatait a IV. táblázat tartalmazza. A 3 Pa nyírófeszültségnél mért EI értékek az artériás vérmintákban szignifikánsan alacsonyabbak voltak a szisztémás vénás ( $p=0,036$ ) és portalis vérmintákhoz

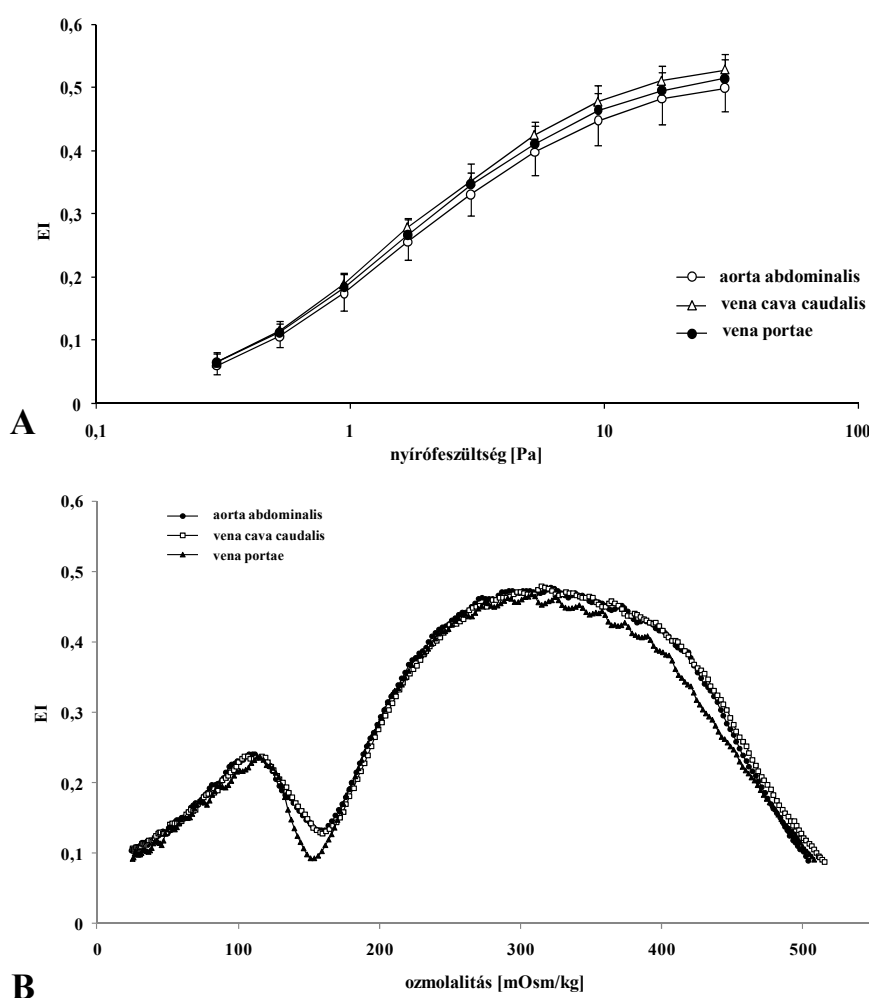
képest ( $p=0,039$ ). Az  $EI_{\max}$  értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak az artériás vérmintákban, mint a szisztémás vénás vérmintákban ( $p=0,004$ ). Az  $SS_{1/2}$  értékek magasabbak voltak az artériás vérmintákban, mint a szisztémás vénás vérmintákban ( $p=0,023$ ). Az artériás és portalis vénás vérminták közti különbség nem volt szignifikáns.

**IV. táblázat:** Sprague-Dawley patkányok aorta abdominalis-ából, a vena cava caudalis-ából és a vena portae-jéből származó vérminták laktát, vérgáz, haematologiai, vörösvérsejt deformabilitási, ozmotikus gradiens ektacytometriás és aggregációs paraméterei

Paraméter	Aorta abdominalis	Vena cava caudalis	Vena portae
laktát koncentráció [mmol/l]	$2 \pm 0,42 *$	$1,3 \pm 0,24$	$1,57 \pm 0,39$
pH	$7,39 \pm 0,03 * \#$	$7,33 \pm 0,03$	$7,32 \pm 0,05$
$pO_2$ [mmHg]	$87,7 \pm 10,32 * \#$	$41,5 \pm 10,86$	$39,5 \pm 7,98$
$pCO_2$ [mmHg]	$33,01 \pm 7,63 *$	$44,67 \pm 10,87$	$42,26 \pm 10,45$
fehérvérsejtszám [ $\times 10^3/\mu l$ ]	$4,43 \pm 1,54 * \#$	$5,94 \pm 1,67$	$5,86 \pm 1,34$
vörösvérsejtszám [ $\times 10^6/\mu l$ ]	$6,98 \pm 0,42$	$7,21 \pm 0,4$	$7,23 \pm 0,39$
Hgb [g/dl]	$11,71 \pm 0,58$	$12,06 \pm 0,52$	$12,04 \pm 0,63$
Hct [%]	$44,46 \pm 2,2$	$45,38 \pm 2,15$	$44,74 \pm 1,96$
MCV [fl]	$63,76 \pm 2,27$	$62,99 \pm 1,73$	$61,91 \pm 2,04$
RDW-CV% [%]	$13,83 \pm 0,41$	$13,78 \pm 0,52$	$13,85 \pm 0,45$
MCH [pg]	$16,78 \pm 0,59$	$16,75 \pm 0,43$	$16,66 \pm 0,55$
MCHC [g/dl]	$26,36 \pm 0,66$	$26,59 \pm 0,39$	$26,92 \pm 0,75$
thrombocyta szám [ $\times 10^3/\mu l$ ]	$735,2 \pm 46,5$	$742,4 \pm 76,1$	$747,8 \pm 75,1$
MPV [fl]	$7,79 \pm 0,41$	$7,61 \pm 0,37$	$7,54 \pm 0,37$
$EI$ 3 Pa-nál	$0,331 \pm 0,034 * \#$	$0,351 \pm 0,014$	$0,346 \pm 0,032$
$EI_{\max}$	$0,546 \pm 0,038 *$	$0,575 \pm 0,022$	$0,557 \pm 0,043$
$SS_{1/2}$ [Pa]	$2,07 \pm 0,37 *$	$1,95 \pm 0,31$	$1,93 \pm 0,23$
$EI$ max	$0,091 \pm 0,015$	$0,097 \pm 0,013$	$0,1 \pm 0,015$
$EI$ min	$0,456 \pm 0,06$	$0,466 \pm 0,041$	$0,452 \pm 0,075$
$EI$ hyper	$0,228 \pm 0,03$	$0,233 \pm 0,021$	$0,236 \pm 0,025$
Ozmolalitás $EI$ min - nél [mOsm/kg]	$166,5 \pm 11,41$	$168,87 \pm 13,26$	$166,71 \pm 10,4$
Ozmolalitás $EI$ max - nál [mOsm/kg]	$335,62 \pm 33,51$	$345,25 \pm 34,42$	$327 \pm 23,21$
Ozmolalitás $EI$ hyper - nél [mOsm/kg]	$487,12 \pm 28,66$	$489 \pm 24,6$	$488,25 \pm 25,01$
Area	$117,63 \pm 18,89$	$121,12 \pm 13,61$	$117,91 \pm 20,08$
M 5 s	$1,15 \pm 0,46$	$1,26 \pm 0,52$	$1,21 \pm 0,58$
M1 10 s	$4,38 \pm 2,51 *$	$2,27 \pm 0,83 \#$	$4,71 \pm 1,98$
M 5 s	$2,03 \pm 0,88$	$1,87 \pm 0,85$	$2,95 \pm 2,0$
M1 10 s	$5,27 \pm 3,13$	$5,03 \pm 2,24$	$6,18 \pm 4,24$

átlag  $\pm$  S.D.,  $n=13$ , \*  $p<0,05$  vs. v. cava caudalis, #  $p<0,05$  vs. v. portae (Student-féle t teszt/páros t-próba)  
 $EI$  3 Pa-nál = elongációs index 3 Pa nyírófeszültségnél;  $EI_{\max}$  = kalkulált maximális elongációs index;  $SS_{1/2}$  = a maximális elongációs index feléhez tartozó nyírófeszültség,  $EI$  max = maximális elongációs index érték,  $EI$  min = minimális elongációs index érték a hypoosmolaris tartományban,  $EI$  hyper = az  $EI$  max fele a hyperosmolaris tartományban

A 23. ábra B felén az aorta abdominalis, vena cava caudalis, és vena portae vérminták reprezentatív EI-ozmolalitás görbéi láthatóak, a numerikus adatokat a IV. táblázat tartalmazza. A portalis vénás vérmintákban kismértékben torzuló görbét láttunk fluktuáló értékekkel és kevésbé meredek lefutással a magasabb ozmolalitás értékeknél (350-400 mOsm/kg). A minimális elongatiós index értékek kismértékben magasabbak voltak a szisztémás és portalis vénás vérmintákban. A maximális EI értékek nem különböztek egymástól, csak a vénás vérmintákban voltak kissé emelkedettek. Az EI hyper mérsékeltén nagyobb volt mindkét vénás mintában az artériás vérmintákhoz képest. Az EI max-nál mérhető ozmolalitás kismértékben ugyan, de magasabb volt a szisztémás vénás vérmintákban, mint az artériásban. A legalacsonyabb a portalis vénás mintában volt, a szisztémás vénás vérmintához hasonlítva megközelítve a szignifikancia szintet ( $p=0,072$ ).



**23. ábra**

A vörösvérsejt elongatiós index (EI) értékek a nyírófeszültség függvényében (A), valamint reprezentatív EI – ozmolalitás görbék (B) Sprague-Dawley patkányok aorta abdominalis-ából, vena cava caudalis-ából és vena portae-jéből nyert vérmintákban  
A: átlag  $\pm$  S.D.,  $n=13$  (LoRRca MaxSis Osmoscan rotációs ektacytometer)

Az artériás vérben az 5. másodpercben mért vörösvérsejt aggregációs index M paraméterei bizonyultak a legalacsonyabbnak a szisztémás vénás és a portalis vénás vérmintákhoz képest, de a különbség nem volt szignifikáns. Az 5 másodperces M1 paraméter az artériás vérmintákban volt magasabb, mint a szisztémás vérmintában. A legmagasabb M1 értékeket a portalis vénás vérmintákban mértük ( $p=0,055$  vs. szisztémás vénás). Az M 10 s index értékek már jelentős különbséget mutattak. A vena cava caudalisból vett mintában volt a legalacsonyabb, amely szignifikánsnak bizonyult az artériás ( $p=0,001$ ) és a portalis vénás ( $p<0,001$ ) mintákhoz képest. A 10. másodperces M1 értékek esetén nem tapasztaltunk szignifikáns különbséget. Az artériás vérmintákban mérsékelten magasabbak voltak a szisztémás vénás értékekhez képest, míg a legmagasabb értékeket a portalis vénás mintákban mértük (IV. táblázat).

#### *Megbeszélés, konklúzió:*

A micro-rheologiai eredmények jól korrelálnak az irodalomban fellelhető ezirányú, de igen kevés adattal. Son és munkatársai szintén azt találták, hogy patkányban az elongációs index értékek alacsonyabbak az artériás vérmintákban a vénához képest. Ezt a különbséget nem figyelték meg ember és kutya vérminták esetében.<sup>290</sup> Simmonds és munkatársai emberben a vénás vérnél magasabb aggregációs index értékeket mértek fülcimpából vagy ujjbegyből vett capillaris vérmintákban.<sup>288</sup>

Összegzésképpen elmondható, hogy az ektacytometerrel meghatározott vörösvérsejt deformabilitás és a fénytranszmissziós elven működő aggregometerrel mért vörösvérsejt aggregatio patkány aorta abdominalis-ból, vena cava caudalis-ból illetve vena portae-ből nyert vérmintákban nem azonos, alátámasztva a mintavételi lokalizáció pontos megtervezésének fontosságát az adatok összehasonlíthatósága szempontjából. A micro-rheologiai arterio-venosus különbségek kimutathatósága nagymértékben függ az alkalmazott mérőmódszer érzékenységétől is.

A fejezet alapjául szolgáló közlemények: (1) Hevér T, Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, Németh N, Korea-Aust Rheol J 2010;22:59-64.; (2) Klárik Z, Kiss F, Mikó I, Németh N, Clin Hemorheol Microcirc 2013;53:217-229.

## **5.2. Az anticoagulansok hatása a micro-rheologiai paraméterekre**

#### *Háttér, célkitűzés:*

Az általánosan javasolt anticoagulans szer a legtöbb haemorheologiai vizsgálatához (vörösvérsejt deformabilitás, vörösvérsejt aggregatio meghatározás különböző módszerei) a etilén-diamin-tetraacetilsav kálium sója ( $K_3$ -EDTA, 1,5-1,8 mg/ml).<sup>14,17,137</sup> Azonban erek kanülálásakor, intravascularis beavatkozásoknál, ér-anastomosisok készítésekor az állatkísérletekben is szükséges lehet a heparin nátrium-sójának lokális vagy szisztémás alkalmazása. Így ezekben a kísérletes modellekben a heparin is elfogadott és szükséges anticoagulans a haemorheologiai vizsgálatokhoz. A heparin vörösvérsejt deformabilitásra kifejtett hatásairól kevés adat áll rendelkezésre, s feltételezésünk szerint eltérő mértékű változásokat okozhat az állatfajokban.

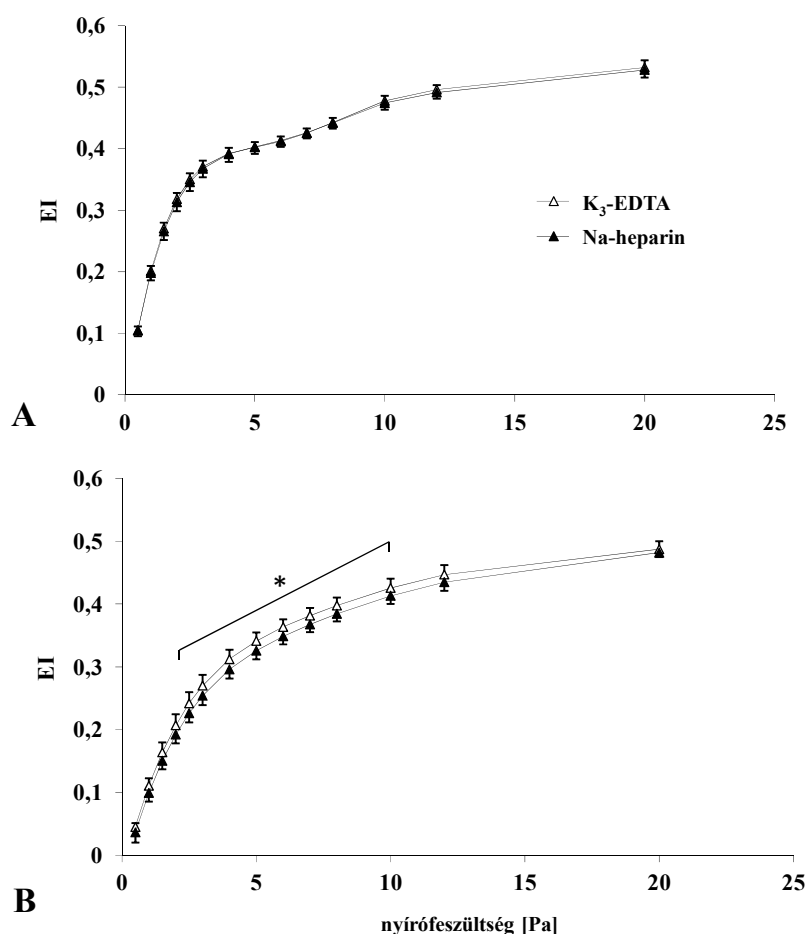


### Anyagok és módszerek:

Nőstény CD patkányoktól ( $n=5$ ,  $300,4 \pm 30,9$  g) altatásban (60 mg/kg pentobarbital, i.p.) a szív punctiója révén, és nőstény beagle kutyáktól ( $n=5$ ,  $12 \pm 2,13$  kg) a vena cephalica-ból zárt vérvételi rendszerben vért vettünk 1,5 mg/ml  $K_3$ -EDTA-t és 10 U/ml Na-heparin-t tartalmazó Vacutainer<sup>®</sup> csövekbe. A méréseket a vérvételt követően 1 órán belül elvégeztük. Meghatároztuk a haematologiai paramétereket (Sysmex F-800 microcell counter), valamint a vörösvérsejt deformabilitást slit-flow ektacytometerrel.

### Eredmények:

Ahogy várható volt, a thrombocytaszám jelentősen alacsonyabb volt mindkét faj Na-heparinos vérmintáiban a  $K_3$ -EDTA-s mintákhoz képest, míg a többi haematologiai paraméter nem mutatott számottevő eltérést. A vörösvérsejt deformabilitást jellemző elongációs index adatokban azonban jelentős különbség mutatkozott a két vizsgált állatfaj vérmintái között. Patkányoknál az EI identikus volt a Na-heparinos és a  $K_3$ -EDTA-s vérmintákban, míg beagle kutyáknál a heparinos vérminta EI értékei 2,5 és 10 Pa nyírófeszültség tartományban szignifikánsan alacsonyabbak voltak a  $K_3$ -EDTA-s vérmintákénál (24. ábra).



24. ábra

CD patkányok (A) és beagle kutyák (B)  $K_3$ -EDTA-val vagy Na-heparinnal anticoagulált vérmintáinak vörösvérsejt elongációs index (EI) adatai a nyírófeszültség függvényében  
 átlag  $\pm$  S.D.,  $n=5-5$ , \* $p<0,05$  vs. Na-heparin (Student-féle t-test/Mann-Whitney RS teszt)  
 (Rheoscan-D slit flow ektacytometer)

*Konklúzió:*

Az adatok a különböző anticoaguláns szereket tartalmazó vérminták haemorheológiai összehasonlíthatóságának nehézségeire, lehetséges faji különbségeire, a megfelelő mintavételi protokoll megtervezésére és az adekvát kontroll vizsgálatokra hívhatják fel a figyelmet. Az ezirányú összehasonlító vizsgálatok folytatása többféle anticoaguláns szer alkalmazásával és szélesebb körű faji összehasonlítással –beleértve a humán vérminták micro-rheológiai elemzését is– indokolt lehet.

A fejezet alapjául szolgáló rövid közlemény: Németh N, Baskurt OK, Meiselman HJ, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2009;43:257-259.

### **5.3. A tárolási idő és hőmérséklet eltérő hatása különböző állatfajok vérmintáin**

*Háttér, célkitűzés:*

Számos alkalommal merül fel a vérvétel és az elvégzett laboratóriumi mérések között eltelt idő, az *in vitro* tárolás („*in vitro* aging”) befolyásoló hatásának problémája. Ez nemcsak a mindennapi analitikai munka során fontos kérdés, hanem a vérminták egyes laboratóriumok közötti transzportja szempontjából is (akár másik országba/államba). Ilyenkor nemcsak az idő, hanem a hőmérséklet és annak állandósága is alapvető fontosságú a későbbi megbízható mérések szempontjából. A vörösvérsejtek tárolása során metabolikus deplécio, megzavart ion homeostasis (lassuló majd leálló ion pumpák), protein és lipid módosulások (oxidáció, degradáció, keresztkötések) jönnek létre, amelyek a sejt volumen, így a felszín-térfogat arány, az intracelluláris haemoglobin koncentráció változása, továbbá a protein és lipid módosulások miatt a membrán viszkoelasztikus tulajdonságaiban bekövetkező változások módosíthatják a vörösvérsejtek deformabilitását.<sup>14,143,312,323,334,354</sup> A haemorheológiai paraméterek kapcsán metodika-függő klinikai laboratóriumi adatok már elérhetőek, humán vérminták vizsgálatára ajánlások ismertek.<sup>17,33</sup> Állatkísérletes vonatkozásban azonban a különböző fajok vérmintáinak érzékenységről e téren is alig ismertek adatok egyes haematológiai paraméterek kivételével.<sup>119,212,243</sup>

*Anyagok és módszerek 1:*

Vizsgálatunk során (engedélyszám: 37/2007. DE MÁB) nőstény CD patkányoktól (n=5, 329±83 g) terminális vérvételként a reggeli órákban altatásban (Na-pentobarbitál, 35 mg/kg, i.p.) a szív direkt punkciójával, és nem-terminális vérvételként beagle kutyáktól (n=5, 12,1±2,13 kg) a vena cephalica-ból zárt vérvételi rendszerbe (BD Vacutainer®, K<sub>3</sub>-EDTA) 7-8 ml vért vettünk. Meghatározásra kerültek a haematológiai paraméterek (Sysmex F-800 automata), a vér- és plazmaviszkozitás (Hevimet-40 kapilláris viszkoziméter), a vörösvérsejt deformabilitás (RheoScan-D200 slit-flow ektacytometer, Carat FT-1 filtrometer) és a vörösvérsejt aggregatio (Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer). Az első méréseket 10-15 perccel a vérvétel után elvégeztük (0. óra). A vérminták egy részét 4-8 °C-on hűszigetelt dobozban elhelyezett tört jeget tartalmazó tasakok mellett tároltuk 24, 48, illetve 72 óráig.

A dobozon belüli hőmérsékletet monitoroztuk (0. óra: 4,4 °C, 24. óra: 6,1 °C, 48 óra: 6,8 °C, 72. óra: 9,8 °C). A mérések előtt a hűtve tárolt vérmintákat 20 percig szobahőmérsékleten hagytuk és óvatosan átforgattuk. A vérminták másik felét szobahőmérsékleten (22 °C) tároltuk, és 2, 4, 6, 24, 48 és 72 óra elteltével mértük.

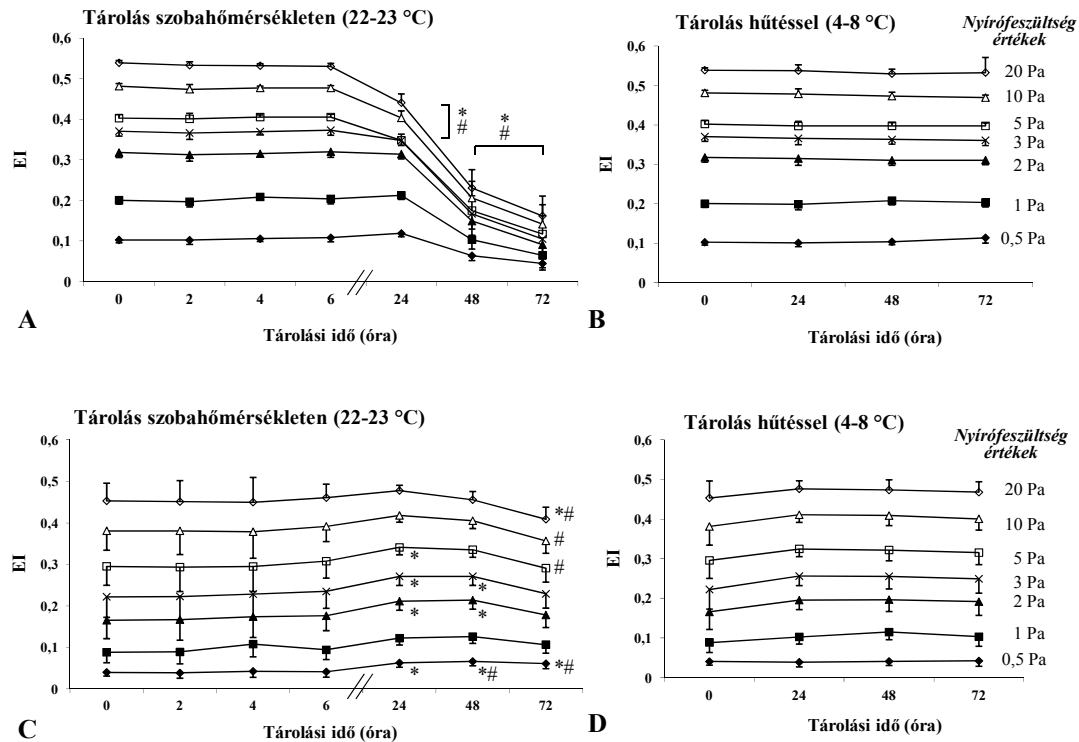
#### *Eredmények 1:*

A haematologiai paraméterek közül a vörösvérsejt átlagos térfogat (MCV [fl]) értékek az első 6 órán belül egyik faj vérmintájában sem mutattak jelentős változást szobahőmérsékleten való tárolás esetén. 24 óra elteltével már mindkét faj esetén jelentősen nőtt az MCV értéke, legnagyobb mértékben patkányoknál (közel 25%-os növekedés). Hűtéssel történt tárolásnál az MCV növekedése mindkét állatfajnál kiküszöbölhető volt a vizsgált 72 óra alatt.

Az 1 ml vagy afölötti szükséges mintamennyiség miatt (4.1.1. fejezet) a filtrometriás- és viszkozitási méréseket csak a beagle kutyák hűtéssel tárolt mintáinál tudtuk elvégezni. A teljes vér viszkozitásában ( $90 \text{ s}^{-1}$ ) a hűtéssel történő tárolás esetén 24 óra elteltével tapasztaltunk emelkedést, amely az alapértékhez képest szignifikáns mértékűnek bizonyult ( $p < 0,01$ ). A plazma viszkozitása ezzel párhuzamosan csökkent, 48 óra elteltével mutatott szignifikáns eltérést ( $p = 0,008$ ). A filtrometriás vörösvérsejt deformabilitás mérések során meghatározott kezdeti relatív filtrációs ráta (IRFR) értékeiben a tárolás során folyamatos csökkenés mutatkozott, amely a 72 óra elteltével szignifikánsan mértéket ért el ( $p = 0,002$ ). A relatív sejt-tranzitidő (RCTT) megnyúlt, mértéke már a tárolás 24. órájában szignifikáns volt ( $p = 0,022$ ).

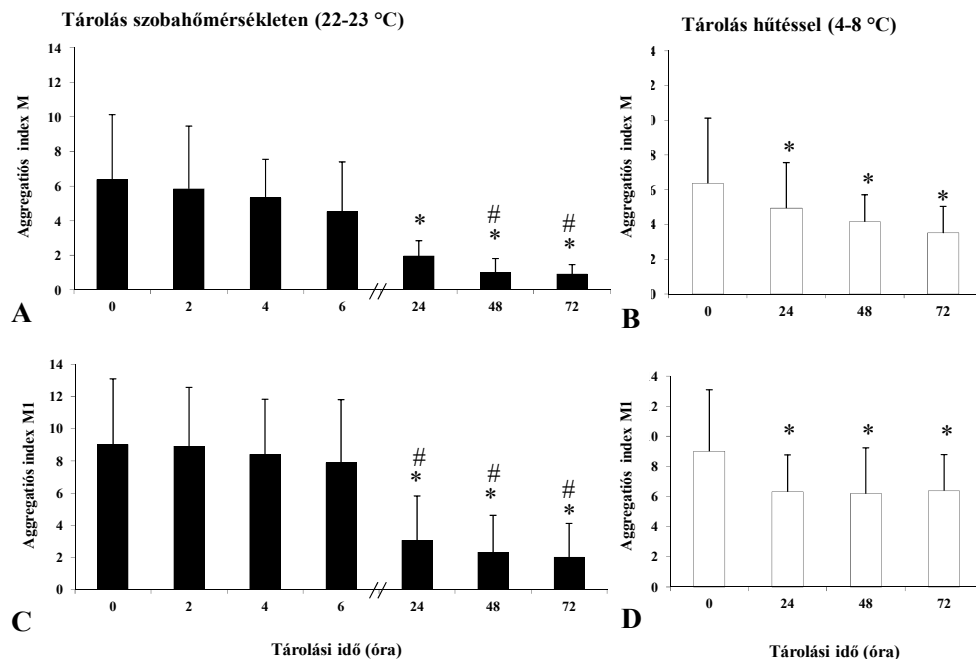
A vörösvérsejt deformabilitás ektacytometriás mérését és az aggregációs vizsgálatokat minden mintán el tudtuk végezni. A patkány vérminták vörösvérsejt deformabilitás értékekben a szobahőmérsékleten való tárolás során az első 6 órában változást nem tapasztaltunk, de ezt követően jelentős és folyamatos elongációs index csökkenés mutatkozott. 24 óra elteltével a 10-20 Pa közötti nyírófeszültség tartományban volt jelentős romlás, majd 48 és 72 óra múlva az alacsonyabb nyírófeszültség értéknél is szignifikáns EI romlást tapasztaltunk az alapértékekhez képest ( $p < 0,001$ ). Hűtéssel való tárolásnál ez a romlás kivédhető volt (25. ábra, A,B). A beagle kutyák vérmintáiban az EI értékek állandónak mutatkoztak az első 6 órában, szobahőmérsékleten. A változások mértéke mérsékeltebb volt: 24 és 48 óra elteltével EI emelkedés, majd 72 óra elteltével szignifikánsan csökkenés volt megfigyelhető, amely hűtéssel elkerülhető volt (25. ábra, C,D).

Beagle kutyák vérmintáiban a tárolási idő függvényében fokozatos vörösvérsejt aggregációs index (M 5 s, M1 5 s) csökkenést tapasztaltunk (két óránként 6-8%-os csökkenés), amely 24 óra elteltével is folytatódott. A hűtés lassította, de nem akadályozta a folyamatot (26. ábra). Patkány vérminták aggregációs index értékeiben (M 5 s, M1 5 s) már 2 óra elteltével 40-60%-os csökkenését észleltük, amely csökkenés tovább folytatódott 6 óra elteltével is. Meglepő módon 24 óra tárolás után az aggregációs index értékek növekedni kezdtek, megközelítve, majd elérve a kiindulási értékeket. A 4-8 °C-on történő tárolással az aggregációs index értékek mindvégig alacsonyabbak maradtak az alapértékekhez képest (27. ábra).



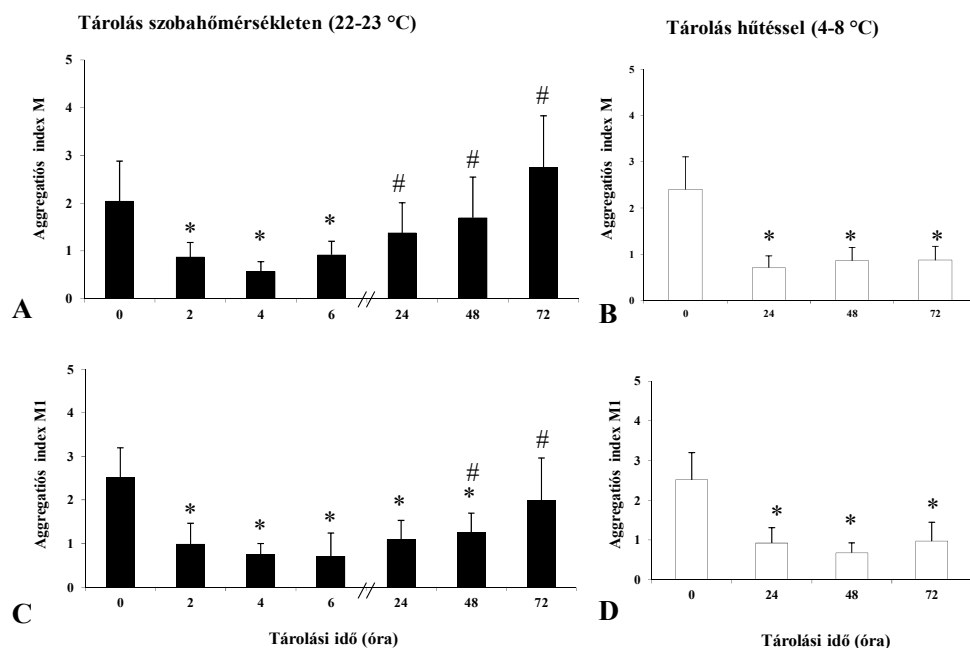
25. ábra

CD patkányok (A,B) és beagle kutyák (C,D) szobahőmérsékleten vagy hűtéssel tárolt vérmintáinak különböző nyírófeszültség értékeknél (0,5-20 Pa) mért elongációs index (EI) változása a tárolási idő függvényében.  
 átlag  $\pm$  S.D.,  $n=5-5$ , \* $p<0,05$  vs. alapértékek (0. óra) (Bonferroni/Dunn teszt),  
 #  $p<0,05$  vs. hűtés (Student-féle t-test/Mann-Whitney RS teszt)  
 (Rheoscan-D slit flow ektacytometer)



26. ábra

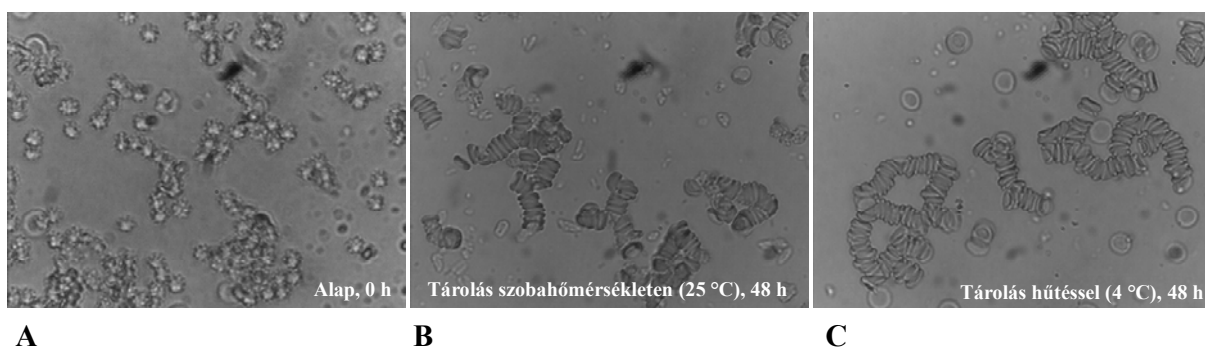
Beagle kutyák szobahőmérsékleten vagy hűtéssel tárolt vérmintáinak M 5 s (A,B) és M1 5 s (C,D) aggregációs index értékei a tárolási idő függvényében.  
 átlag  $\pm$  S.D.,  $n=5$ , \* $p<0,05$  vs. alapértékek (0. óra), #  $p<0,05$  vs. hűtés  
 (Myrenne MA-1 erythrocyta aggregometer)



27. ábra

CD patkányok szobahőmérsékleten vagy hűtéssel tárolt vérmintáinak M 5 s (A,B) és M1 5 s (C,D) aggregációs index értékei a tárolási idő függvényében. átlag  $\pm$  S.D., n=5, \*p<0,05 vs. alapértékek (0. óra), # p<0,05 vs. hűtés

Patkány vérmintán ezt a paradox jelenséget -megerősítésképpen- együttműködésben az Antalya-i Egyetem haemorheologiai kutatólaboratóriumában hasonló fénytranszmissziós aggregometerrel is kimutattuk. Mikroszkópos vizsgálattal kimutatható volt, hogy a jelenség hátterében az echinocita sejthalakok nagymennyiségű képződése állhat, ami jellemző a környezeti hatásokra igen érzékeny patkány vörösvérsejtekre.<sup>317,318</sup> Ismert, hogy ezek a sejthalakok nehezen aggregálódnak.<sup>261</sup> Az idő előrehaladásával és a sejtek duzzadásával e formák száma kevesebb lett (28. ábra). A discocyta, stomatocyta és a sphero-stomatocyta alakok már könnyebben aggregálódnak,<sup>24,262,264</sup> paradox módon így „normalizálva” az aggregációs index értékeket.



28. ábra

CD patkány vérmintájának közvetlenül vérévétel utáni (A), és szobahőmérsékleten (B) vagy hűtéssel (C) tárolt 48 órás tárolást követő mikroszkópos képe. Eredeti nagyítás: 200x

### *Konklúzió 1:*

Adataink a vérminták tárolása és a haemorheologiai laboratóriumok közötti esetleges szállítása kapcsán nyújthatnak támpontot. A tárolási idő és hőmérséklet kapcsán mutatkozó nagyfokú különbség a két vizsgált laboratóriumi állatfaj vérmintájának érzékenységében jelentősen befolyásolhatja a kísérletekben nyert eredmények értékelhetőségét. Beagle kutya és patkány vérmintáknál a deformabilitási méréseket 4-6 órán belül el kell végezni, de a legjobb 2 órán belül. Az aggregációs méréseket patkány vérminták esetén lehetőleg közvetlenül a vérvételt követően el kell végezni.

Nemzetközi munkacsoportban humán vérmintákon is elemeztük a tárolási idő és hőmérséklet a micro-rheologiai paraméterekre kifejtett hatását.

### *Anyagok és módszerek 2:*

Tíz egészséges férfi önkéntestől (életkor: 25-52 év) az antecubitalis vénák egyikéből vért vettünk (Na-heparin, 15 U/ml), majd a mintákat 20 részre, almintákra osztottuk (2 ml/alminta): 10 szobahőmérsékleten ( $25 \pm 2$  °C), 10 hűtőben ( $4 \pm 2$  °C) került tárolásra 1, 2, 3, 4, 6, 8, 12 illetve 24 óra időtartamra. A vörösvérsejt deformabilitást LORCA ektacytométerrel, a vörösvérsejt aggregatiót a Myrenne MA-1 készülékkel analóg fotometriás aggregometerrel mértük. Az összehasonító elemzéshez az elongációs index – nyírófeszültség görbék parametrizálásával nyert  $SS_{1/2}$  értékeket (a maximális elongációs index értékek feléhez tartozó nyírófeszültség) és az aggregációs folyamat 10. másodpercénél meghatározott M index értéket használtuk.

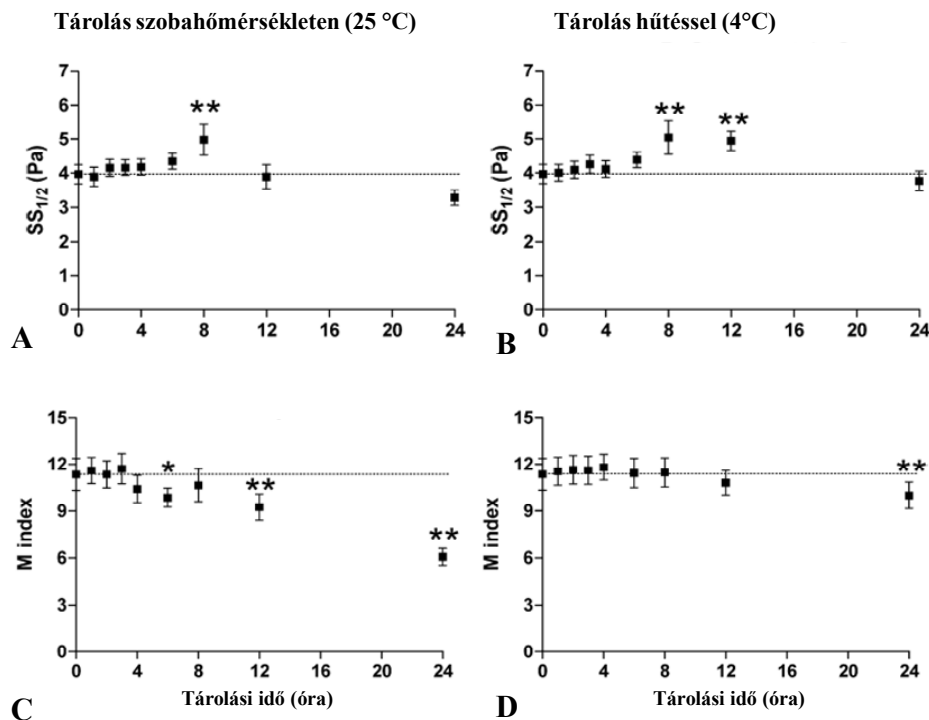
### *Eredmények 2:*

Az  $SS_{1/2}$  értékek 6 órán keresztül stabilak voltak mind szobahőmérsékleten, mind hűtőben való tárolás során. Nyolc órás tárolásnál az értékek szignifikánsan megemelkedtek ( $p < 0,01$ ), ezzel párhuzamosan a maximális elongációs index ( $EI_{max}$ ) értékek jelentősen csökkentek ( $p < 0,01$ ). Ezt követően az  $SS_{1/2}$  az  $EI_{max}$  értékekkel együtt csökkent. A hűtés a folyamatot kismértékben lassította (29. ábra A,B). A vörösvérsejt aggregatio M indexe a 4. órát követően a tárolási idővel csökkent, amelyet a hűtés jelentősen lassított (29. ábra C,D).

### *Konklúzió 2:*

Egészséges humán vérminták ektacytometriás deformabilitás értékei 6 órán, a fénytranszmissziós elvű aggregációs mérések szobahőmérsékleten 4 órán belül stabilak. Az aggregációs mérések ideje hűtéssel mintegy 12 óráig prolongálható, deformabilitás méréseknél 6 órán túl már romlásra kell számítani.

A fejezet alapjául szolgáló közlemények: (1) Németh N, Baskurt OK, Meiselman HJ, Kiss F, Uyuklu M, Hevér T, Sajtos E, Kenyeres P, Tóth K, Furka I, Mikó I, Korea-Aust Rheol J 2009;21:127-133.; (2) Uyuklu M, Cengiz M, Ulker P, Hevér T, Tripette J, Connes P, Németh N, Meiselman HJ, Baskurt OK, Clin Hemorheol Microcirc 2009;41:269-278.



29. ábra

Humán vérmintákban a maximális elongációs index értékek feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$  [Pa]) (A,B) és a vörösvérsejt aggregációs M index (C,D) értékek változása a tárolási idő függvényében szobahőmérsékleten ( $25 \pm 2$  °C) vagy hűtéssel ( $4 \pm 2$  °C) való tárolás mellett.  
 átlag  $\pm$  S.E.,  $n=10$ , \* $p<0,05$ , \*\*  $p<0,01$  vs. alapértékek (0. óra)  
 (ismételt mérések ANOVA, Newman-Keuls post hoc teszt)

#### 5.4. A centrifugálás eltérő hatása különböző állatfajok vérmintáin

*Háttér, célkitűzés:*

A laboratóriumi mérésekhez való mintaelőkészítés során a centrifugálás (különböző hőmérséklet, idő és  $g$  erő kombinációiban) a mindennapok része. Haemorheológiai méréseknél a különböző vörösvérsejt-autológ plazma és vörösvérsejt-puffer szuszpenziók készítéséhez elengedhetetlen a minták többszöri centrifugálása, a sejtek „mosása” különböző pufferekben.<sup>17,137</sup> A centrifugálás során jelentős mechanikus stressz érheti a sejteket. A vörösvérsejtek potenciális károsodása nagyban függ az alkalmazott mechanikus stressz nagyságától és időtartamától.<sup>156,186</sup> A centrifugálás során a vörösvérsejtek víztartalma csökkenhet, amely az átlagos corpuscularis haemoglobin koncentráció emelkedéséhez, így deformabilitás romláshoz és a nyírófeszültséggel szembeni kisebb tűrőképességhez vezet.<sup>159</sup> A mechanikus károsodásban a centrifugálás során fontos tényező a sejtekre ható nyomás is (tubusfal-sejt és sejt-sejt közötti relációban).<sup>349</sup> Maga a plazma, a plazmaproteinek fontos szerepet játszanak a vörösvérsejtek mechanikus stresszel szembeni ellenállóképességük tekintetében, a haemolysis ellen való védelemben.<sup>53,157</sup>

Kevés adat ismert azonban a különböző idejű és erejű centrifugálás haemorheológiai paraméterekre kifejtett hatásáról. A cellularis és plazmatikus összetevők különbségeinek

tükrében feltételeztük, hogy a centrifugálás micro-rheológiai hatása is eltérő mértékű lehet a kísérleti/laboratóriumi állatfajok (pl. patkány, kutya, sertés) és az ember vérmintáiban.

#### *Anyagok és módszerek:*

A vizsgálatokhoz (engedélyszám: 19/2011. DE MÁB) az alábbi állatfajok egészséges egyedeinek vérmintáit használtuk fel: 8 hím Sprague-Dawley patkány ( $408 \pm 59,7$  g, 6-8 hónapos), 7 nőtény beagle kutya ( $12,6 \pm 1,3$  kg, 17-19 hónapos) és 9 nőtény Hungahib sertés ( $16,2 \pm 1,9$  kg, 10-12 hetes). A humán vérminták 15 egészséges önkéntestől származtak (11 nő, 4 férfi, életkor: 26-40 év) (engedélyszám: DE OEC RKEB/IKEB 3625-2012).

A vérvételek a reggeli órákban történtek patkányoktól altatásban (60 mg/kg Thiopenthal, i.p.) terminális vérvételként a szívből, beagle kutyáktól a vena cephalica punctiójával, sertésből bódításban (10 mg/kg ketamin + 1 mg/ xylazin kg, i.m.) a vena saphena medialis-ből. Emberben a vena mediana cubiti-ből vették a vért. Minden vérvétel esetében 21 G-s tűt használtunk zárt vérvételi rendszerrel (BD Vacutainer<sup>®</sup>, K<sub>3</sub>-EDTA, 1,8 mg/ml). Röviddel a vérvételeket követően a mintákat négy részre osztottuk: alapmérésekre és három különböző beállítású centrifugálás vizsgálatára. A szinte végtelen kombinációjú centrifugálási beállítások közül az alábbiakat választottuk: 500 g, 1000 g vagy 1500 g mellett 10 percig, 15 °C-on (Hettich Universal 32 R centrifuga, Hettich Co., Németország). A centrifugált mintákat a mérések előtt óvatosan átforgattuk a homogenizálás érdekében.

Meghatározásra kerültek a haematológiai paraméterek (Sysmex F-800-as automata), a vörösvérsejt aggregatio (Myrenne MA-1 aggregometer), a vörösvérsejt deformabilitás, ozmotikus gradiens ektacytometriás paraméterek, valamint a membránstabilitás (alkalmazott mechanikus stressz: 100 Pa, 300 s) (LoRRca MaxSis Osmoscan). A méréseket 1-2 órán belül el tudtuk végezni.

#### *Eredmények:*

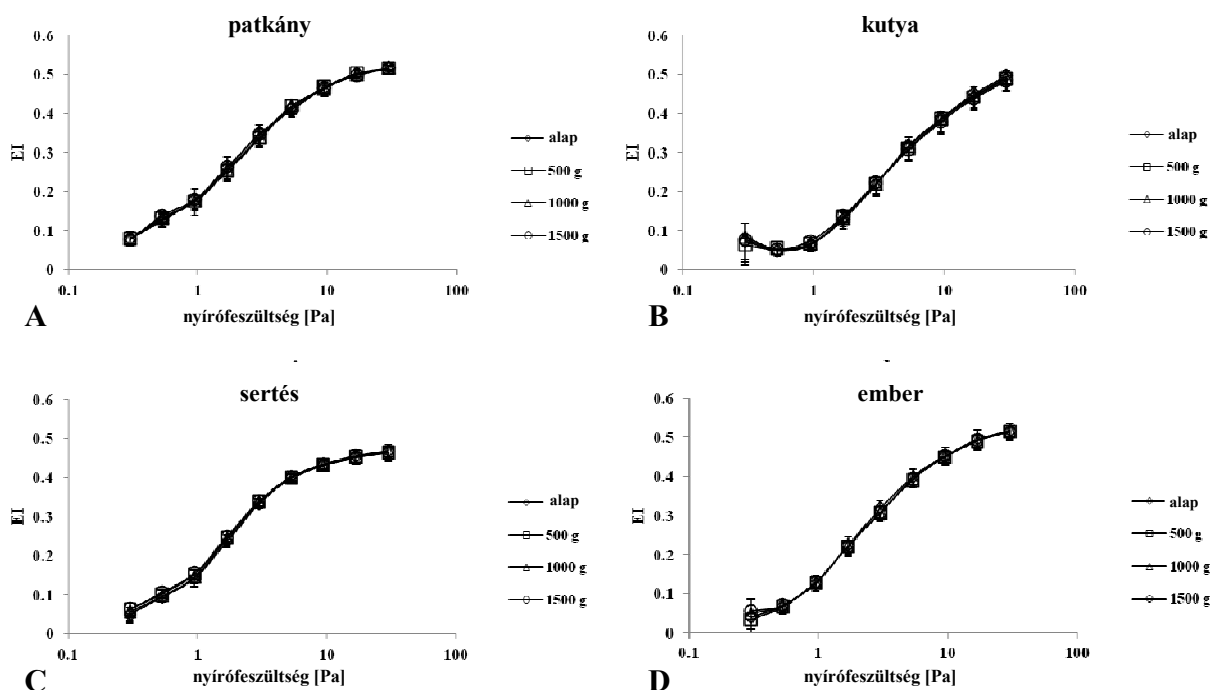
A centrifugálás a kutya vérmintákban okozott kismértékben sejtduzzadást (az MCV 2-5%-kal nöött). Jellemző változás volt mindegyik faj valamennyi centrifugált vérmintáiban, hogy az MCHC kismértékben növekedett, legnagyobb mértékben a humán vérmintákban (4-12%). A különbségek azonban nem érték el a szignifikáns mértéket.

Az elongációs index – nyírófeszültség görbéket tekintve amellet, hogy a fajok között jól látható görbelefutási különbségek mutatkoztak, a centrifugálás egyik beállítás mellett sem okozott kimutatható deformabilitás változást. A görbék egymással átfedtek, gyakorlatilag identikusak voltak (30. ábra).

Az ozmotikus gradiens ektacytometriás paraméterek sem változtak jelentősen. A 31. ábrán a membránstabilitási teszt eredményeként a mechanikus stressz alkalmazása után nyert elongációs index adatok a stressz előtti állapothoz viszonyított aránya került ábrázolásra a nyírófeszültség függvényében. A humán vérminták kivételével egyik fajnál sem mutatkozott jelentős differencia az alapminták és a különböző beállításokkal centrifugált vérminták



membránstabilitási értékei között. Az emberi mintákban a magasabb  $g$  erő mellett végzett centrifugálás hatására a membránstabilitási teszt során alkalmazott mechanikus stressz hatására már kevésbé romlott a deformabilitás (31. ábra, D).



**30. ábra**

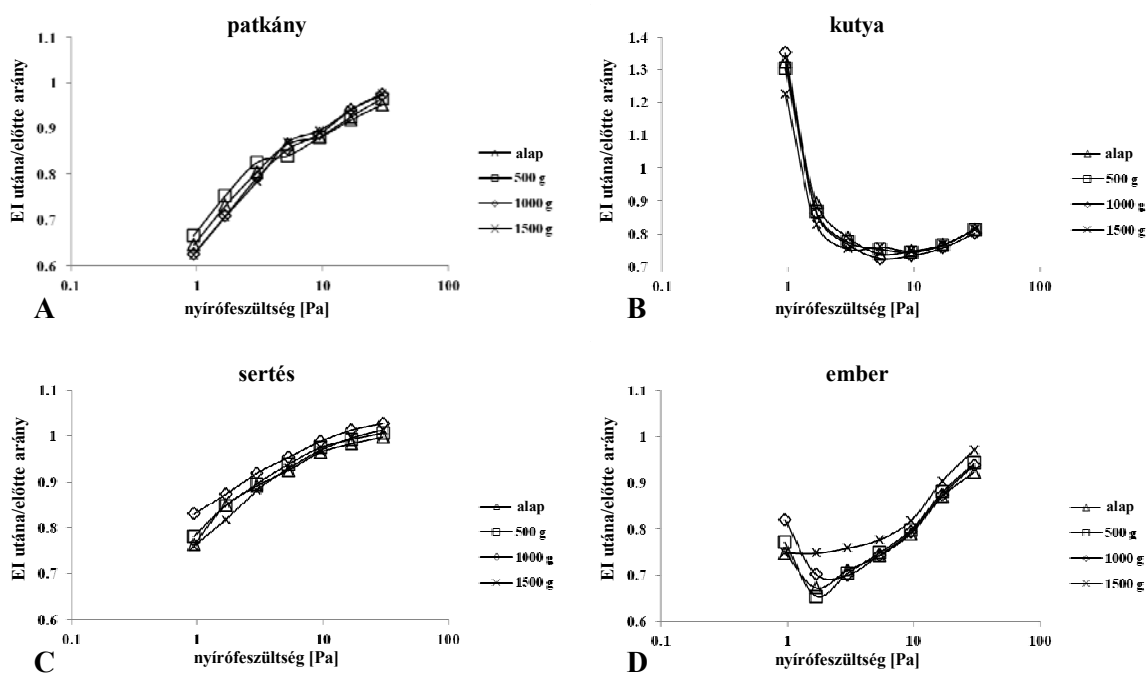
Patkány ( $n=8$ ), kutya ( $n=7$ ), sertés ( $n=9$ ) és ember ( $n=15$ ) centrifugálás nélküli (alap), 500, 1000 vagy 1500  $g$  erővel centrifugált (10 perc, 15 °C) vérminták elongációs index (EI) értékei a nyírófeszültség függvényében. Átlag  $\pm$  S.D.

A vörösvérsejt aggregációs index értékek változásai voltak a leginkább szembevetőek (32. ábra). A patkány vérminták valamennyi index értéke az alkalmazott  $g$  erő növelésével csökkent. Az 1500  $g$ -vel végzett centrifugálásnál ez a csökkenés 50%-nál nagyobb mértékű volt ( $p<0,001$ ).

A kutya vérmintákban hasonló irányú, de jóval kisebb csökkenés mutatkozott leginkább a 5. másodperces index értékekben (M1 5 s 1500  $g$ -nél:  $p<0,001$ ).

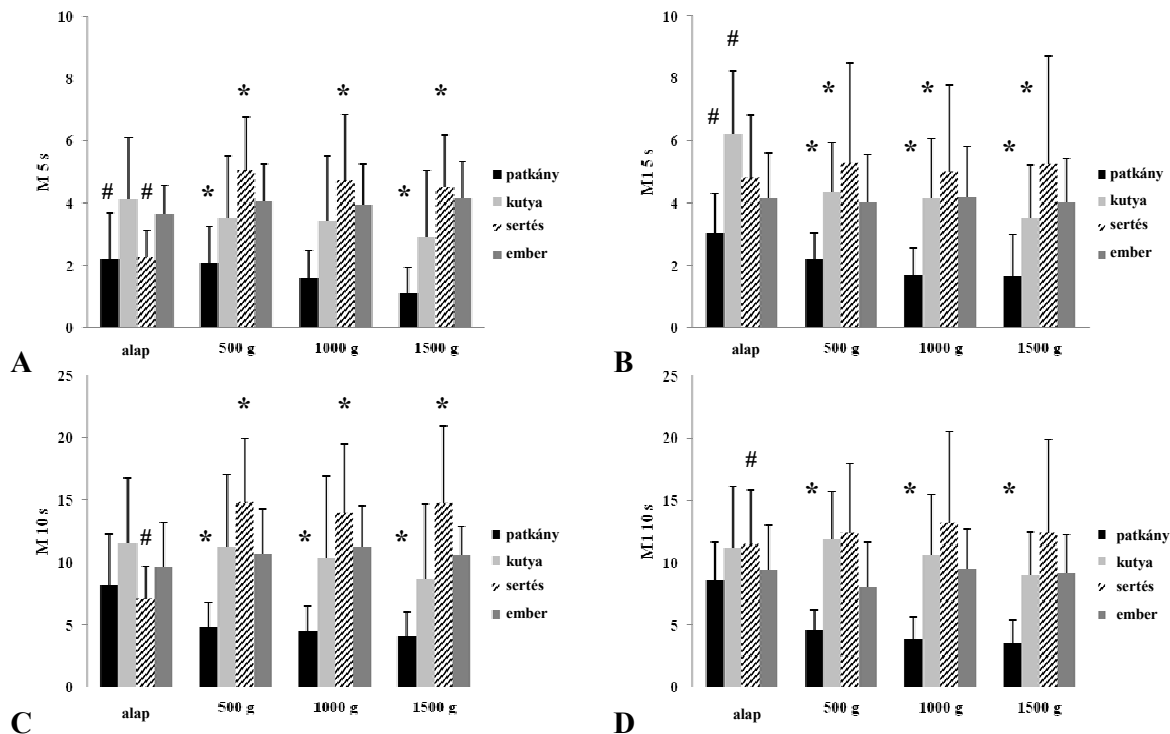
A sertés vörösvérsejtek aggregációs index értékei növekedtek a centrifugálás hatására, már az 500  $g$  erőt alkalmazó beállításnál is. M-módban, azaz stasisnál végzett méréseknél az alapmintákhoz képest közel kétszeresére nőttek az index értékek valamennyi centrifugált mintában (M 5 s, M 10 s,  $p<0,001$ ). M1-módban, azaz  $3 \text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél végzett aggregációs méréseknél (M1 5 s, M1 10 s) ez a növekedés kisebb mértékben ugyan, de megfigyelhető volt.

A legstabilabbnak a humán vérminták bizonyultak: a centrifugálás hatására egyik index paraméter sem mutatott számottevő változást (32. ábra).



31. ábra

Patkány (n=8), kutya (n=7), sertés (n=9) és ember (n=15) centrifugálás nélküli (alap), 500, 1000 vagy 1500 g erővel centrifugált (10 perc, 15 °C) vérminták membránstabilitás teszt során nyert adatai. A mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) alkalmazása után kapott elongációs index (EI) stressz előtti értékekhez viszonyított aránya a nyírófeszültség függvényében. átlag  $\pm$  S.D.



32. ábra

Patkány (n=8), kutya (n=7), sertés (n=9) és ember (n=15) centrifugálás nélküli (alap), 500, 1000 vagy 1500 g erővel centrifugált (10 perc, 15 °C) vérminták vörösvérsejt aggregációt jellemző index paraméterei. A: M 5 s, B: M1 5 s, C: M 10 s, D: M1 10 s. átlag  $\pm$  S.D., \* $p < 0,05$  vs. alap (ANOVA post hoc), # $p < 0,05$  vs. ember (Student t-test/Mann-Whitney RS teszt)

### *Konklúzió:*

Az eredmények alapján elmondható, hogy az 500 g, 1000 g vagy 1500 g erővel 10 percig 15 °C-on végzett centrifugálás hatására a vörösvérsejt deformabilitás (beleértve az ozmotikus gradiens ektacytometriás paramétereket is), valamint a membránstabilitás (5 perces, 100 Pa nyírófeszültség alkalmazása után) nem változik jelentősen patkány, kutya, sertés és emberi vérmintákban. A vörösvérsejt aggregációban azonban különböző mértékű és irányú változások várhatóak. Patkány és kutya vörösvérsejt aggregációs index értékei (M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s) az alkalmazott g erő növelésével csökkennek, a sertések értékei már 500 g-nél jelentősen megemelkednek (1500 g-ig már alig változnak), míg a humán vörösvérsejtek értékei stabilak maradnak.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Kiss F, Tóth E, Miszti-Blasius K, Németh N, Clin Hemorheol Microcirc 2016;62:215-227.

## **5.5. Filtrometria: sejtméret-pórusméret arány befolyásoló hatása**

### *Háttér, célkitűzés:*

A vörösvérsejt deformabilitás filtrometriával való meghatározása a klinikai haemorheologiai laboratóriumokban is széles körben ismert módszer, amelynek magyar (pécsi és debreceni) vonatkozásai is vannak.<sup>43,92</sup> A vizsgálatokhoz szükséges mennyiségű, a standard előírások szerinti 5%-os haematocritú vörösvérsejt szuszpenzió előállításához 2-2,5 ml vér vétele szükséges.<sup>33,43</sup> Állatkísérletes vonatkozásban –főleg a laboratóriumi kisállat modelleken– ez a vérmennyiség komoly problémát jelent.<sup>322</sup> Ezért korábbi vizsgálatainkban a szuszpenzió Htc-ját 5%-ról 1%-ra csökkentettük, s így lehetővé vált patkányokon utánkövetéses vizsgálatok kivitelezése is, alkalmanként 0,5 ml vér vételével. Azonban a módszer magában rejti annak veszélyét, hogy a különböző haematocritú szuszpenziók adatai között jelentős különbségek adódhatnak. Fontos szempont emellett az adott állatfaj vörösvérsejtjeinek alakja, mérete és az alkalmazott filterek pórusátmérője (sejtméret-pórusméret arány),<sup>18,265</sup> amelyek befolyásolhatják a mérések érzékenységét.

A kérdéskört több állatfaj különböző haematocritú vörösvérsejt-suszpenzióit használva vizsgáltuk eltérő pórusátmérű filterekkel.

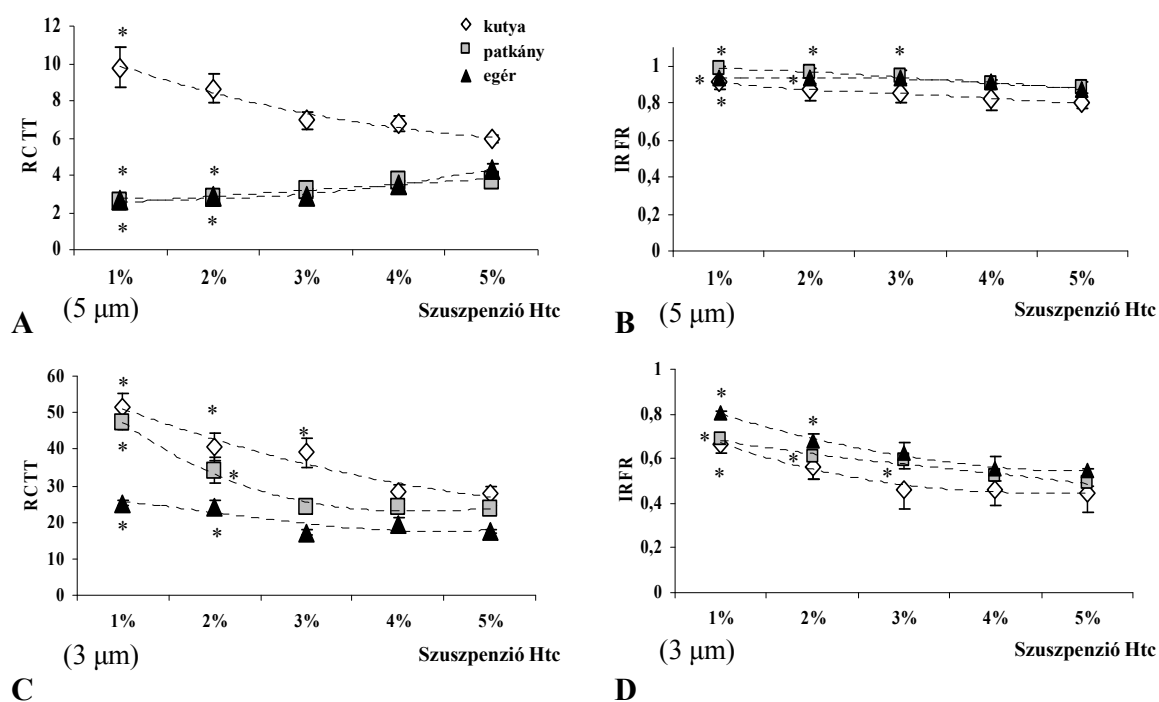
### *Anyagok és módszerek:*

Összehasonlító vizsgálataink során (engedélyszám: 13/2003. DE MÁB) elsőként hím A/J egerek (n=16; 25,71±3,86 g), CD patkányok (n=16; 278,6±37,34 g) és keverék kutyák (n=12; 19,95±4,84 kg) vérmintáiból normál foszfátpufferben (PBS; pH=7,4, ozmolalitás=300 mOsm/kg) 1, 2, 3, 4 és 5%-os haematocritú vörösvérsejt szuszpenziót készítettünk. Minden mintában meghatároztuk a haematologiai paramétereket (Sysmex F-800 microcell counter). A mintákat Carat FT-1 filtrometerrel mértük 3 és 5 µm pórusátmérőjű polikarbonát filteren, állandó nyomás mellett (4 vízcm). Meghatározásra került a kezdeti relatív filtrációs sebesség

(initial relative filtration rate, IRFR), valamint a szuszpenzió haematocritjának ismeretében a relatív sejt-tranzitidő (relative cell transit time, RCTT) (4.1.2. fejezet).

#### Eredmények:

Mindhárom fajban a legmagasabb IRFR értékeket az 1%-os, a legalacsonyabbakat az 5%-os szuszpenziókban mértük. A különbség a standardnak tekintett 5%-os mintához képest szignifikánsnak bizonyult egér esetén a 1 és 2%-os mintában, patkánynál az 1, 2 és 3%-os mintákban mind a 3, mind az 5  $\mu$ m-es filterrel mérve ( $p < 0,01$ ). Kutyánál az 5  $\mu$ m-es filterrel csak az 1%-os, míg 3  $\mu$ m-es filterrel az 1, 2 és 3 %-os szuszpenziók értékei is jelentősen különböztek a standardtól. Azonban az RCTT értékek nem változtak konzekvensen. Egerek és patkányok vérmintáiban a legalacsonyabb RCTT értékeket az 1%-os, a legmagasabbakat az 5%-os haematocritú mintákban mértük 5  $\mu$ m pórusátmérőjű filteren, míg keverék kutyák vérmintáiban az 1 és 2%-os haematocritú szuszpenziók RCTT értékei jelentősen nagyobbak voltak, mint a 3-5%-os mintákban. A 3  $\mu$ m pórusátmérőjű filteren végzett méréseknél ez a jelenség mindhárom faj vérmintában megfigyelhető volt (33. ábra).



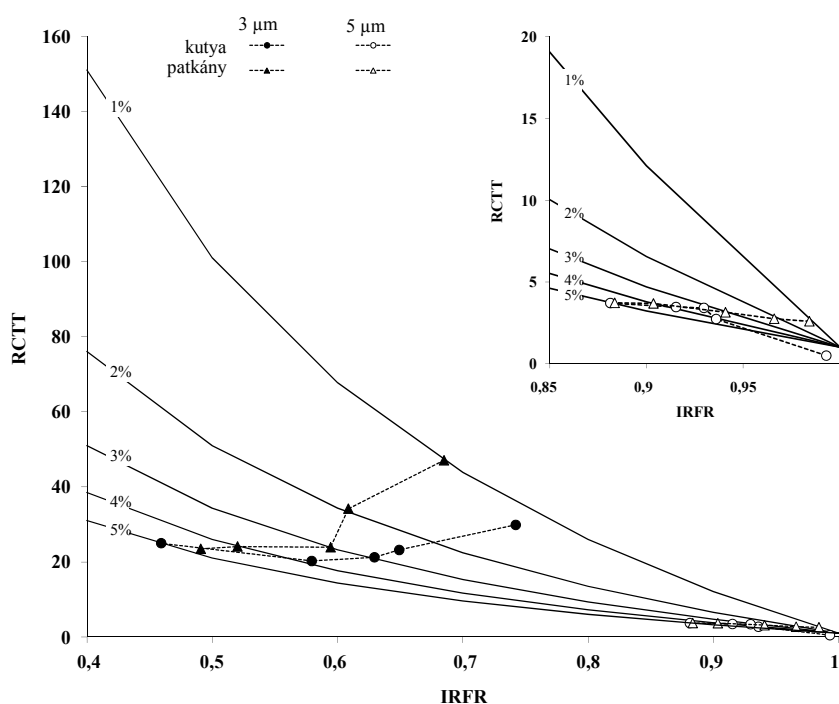
33. ábra

Egér (n=16), patkány (n=16) és kutya (n=12) vérmintákból készített 1, 2, 3, 4 és 5%-os haematocritú (Htc) vörösvérsejt - normál foszfátpuffer szuszpenziók fíltrometriás módszerrel meghatározott kezdeti relatív filtrációs sebessége (initial relative filtration rate, IRFR) és relatív sejt-tranzitidő értékei (relative cell transit time, RCTT) 3 és 5  $\mu$ m átlagos pórusátmérőjű filterrel mérve. átlag  $\pm$  S.D., \* $p < 0,05$  vs. 5% (Student t-test/Mann-Whitney RS teszt)

A kísérletsorozat folytatásaként tovább vizsgáltuk beagle kutyák (n=5;  $13,25 \pm 1,76$  kg) vérmintáin is a sejtméret-pórusméret arány kérdését. Különbséget találtunk a keverék kutya adatokhoz képest is: az RCTT 1-2%-os haematocritú szuszpenziókban keverék kutyáknál

tapasztalt emelkedése beagle kutyák vérmintáiban nem volt egyértelműen megfigyelhető, függetlenül attól, hogy az átlagos vörösvérsejt térfogat értékekben nem volt különbség ( $70 \pm 2,33$  vs.  $70,03 \pm 3,26$  fl).

Az IRFR és RCTT paraméterek egymáshoz való viszonyát ezután matematikai elemzésnek vetettük alá (IRFR-RCTT adatpár görbék különböző haematocrit mellett) (34. ábra). Kimutattuk a filtrációs mérések lehetséges torzító hatását (amely abból következik, hogy az RCTT-t adó egyenletben a Htc nevezőként szerepel – 4.1.2. fejezet). Ez főként laboratóriumi kisállatok (egér, patkány) vérmintáinak vizsgálatakor jelentkezhet, e módszerrel nehezen meghatározható sejtméret-pórusméret határ alatt.



34. ábra

A filtrometriás módszerrel meghatározható kezdeti relatív filtrációs sebesség (initial relative filtration rate, IRFR) és relatív sejt-tranzitidő (relative cell transit time, RCTT) matematikai formula szerinti görbéi ( $RCTT = [(IRFR^{-1} - 1)/Htc] + 1$ ), valamint patkány ( $n=14$ ) és beagle kutya ( $n=5$ ) vérmintáiból készített 1-5%-os haematocritú szuszpenziók 3 és 5 µm átlagos pórusátmérőjű filterrel végzett mérései során nyert értékek. A kiemelt árbarész az 5 µm-es filterrel nyert adatokat tartalmazza kisebb léptékű skálán.

átlag  $\pm$  S.D., tájékoztató adatok:  $MCV_{CDpatkány} = 53,68 \pm 2,19$  fl,  $MCV_{beagle kutya} = 70,03 \pm 3,26$  fl

#### Konklúzió:

Az adatok alapján megállapítható volt, hogy a jól összehasonlítható mérésekhez 3 µm pórusátmérőjű filter esetén egérben, patkányban, keverék- és beagle kutyában csak 3-5% haematocritú, 5 µm pórusátmérőjű filter esetén egérben és patkányban 1-5% haematocritú, keverék- és beagle kutyában 3-5% haematocritú vörösvérsejt szuszpenzió használata ajánlott.

A fejezet alapjául szolgáló közlemények: (1) Németh N, Gulyás A, Bálint A, Pető K, Bráth E, Kiss F, Furka I, Baskurt OK, Mikó I, Microsurgery 2006;26:33-37.; (2) Németh N, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, Mikó I, Korea-Aust Rheol J 2009;21:155-160.

## 5.6. Ektacytometria: a szuszpendáló közeg viszkozitásának hatása

### *Háttér, célkitűzés:*

Ahhoz, hogy a vörösvérsejtek elongálódni tudjanak az ektacytometriás méréseknél, nyíróerőnek kell őket kitenni, ami a vérplazmához képest magas viszkozitású makromolekula (PVP vagy dextrán-70) oldatban valósul meg. Ez a szuszpendáló közeg adja át a nyíróerőt a vörösvérsejt membránnak (4.1.3. fejezet). Ha a viszkozitás alacsony, akkor erő hatására a sejtek elnyúlás nélkül, pörgő mozgást végeznek a mintában, jelentősen megváltoztatva a mérések szenzitivitását is.<sup>111,112,137</sup> A kereskedelmi forgalomban is elérhető (készen megrendelhető) vagy elkészíthető PVP oldatok viszkozitása humán vonatkozásban akár nagymértékben is befolyásolhatja a vörösvérsejt deformabilitási méréseket (M.R. Hardeman személyes közlése).

Állatkísérletes vonatkozásban nem ismertek erre vonatkozó összehasonlító adatok. Feltételeztük, hogy a PVP oldatok viszkozitásának növelésével a vörösvérsejt deformabilitás változásai is érzékenyebben mutathatóak ki.

### *Anyagok és módszerek:*

Összehasonlító vizsgálatunk során (engedélyszám: 37/2007. DE MÁB) 10 hím (12,9±1,6 kg) és 10 nőstény (12,3±2,3 kg) inbred beagle kutyától a vena cephalica, valamint 10 hím (455,6±38,1 g) és 10 nőstény (284,8±14,3 g) Sprague-Dawley patkánytól a laterális farokvéna punctiója révén vért vettünk (K<sub>3</sub>-EDTA, 1,5 mg/ml) a vörösvérsejt deformabilitás meghatározásához (RheoScan-D200 slit-flow ektacytometer). Párhuzamos mérésekhez 15, 20 és 30 mPas viszkozitású, izotóniás PVP (360 kDa, ozmolalitás= ~295 mOsm/kg, pH=~7,4) oldatot használtunk.

### *Eredmények:*

A mérésekkel szignifikáns különbségeket találtunk ugyanazon vérminták eltérő viszkozitású PVP oldat alkalmazásával meghatározott vörösvérsejt elongációs index (EI) értékeiben (V. táblázat). A legmagasabb EI értékeket, azaz a nyíróerő hatására legnagyobb mértékben bekövetkező deformabilitást mindkét vizsgált állatfaj vérmintáin a 30 mPas viszkozitású PVP oldat alkalmazásával mértük. A hím-nőstény összehasonlításban is a legnagyobb különbség a nagyobb viszkozitású közegben mutatkozott, azaz a mérések itt érzékenyebbek voltak. A 20 mPas viszkozitású közegben az EI-nyírófeszültség görbe bár alacsonyabb értékeket adott, stabil és jól értékelhető adatokat biztosított. A 15 mPas-os mintákban a görbék lefutásában a 2 Pa alatti és a 10-15 Pa feletti nyírófeszültség tartományban enyhe fokú torzulást tapasztaltunk.

A mérések reprodukálhatósága is eltérő volt az egyes mintákban. A legnagyobb variabilitást mindkét állatfajnál a 30 mPas viszkozitású közegben történt méréseknél tapasztaltuk 2-3 Pa alatt, jellemzően a 0,5-1 Pa nyírófeszültség tartományban. A nyíróerő növekedésével a CV% értékek 5% alá csökkentek, leghamarabb a 30 mPas-os oldat használatával (patkány: 4 Pa, kutya: 3 Pa).

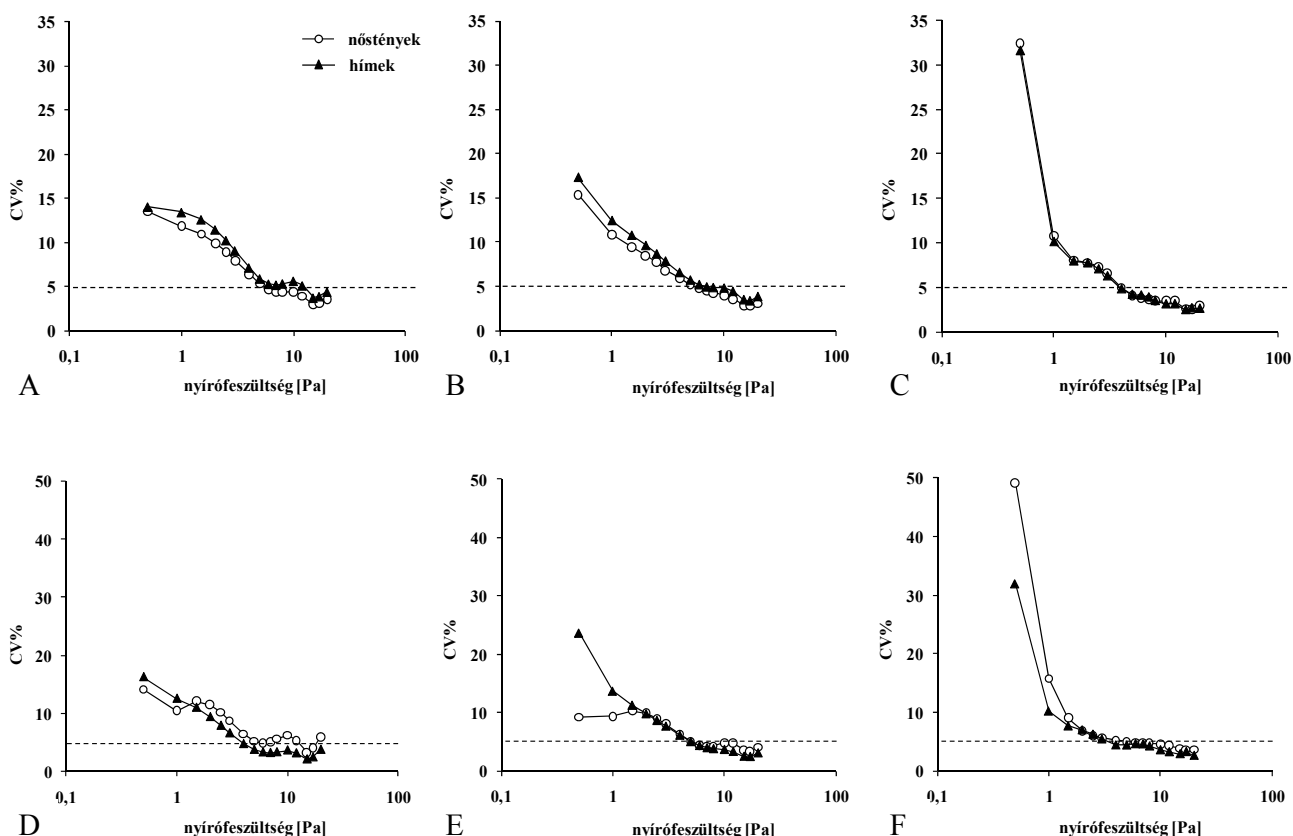
Ugyanez a 15, illetve 20 mPas-os oldatok esetén csak a nagyobb nyírófeszültség értékek elérésével volt látható (patkány: 6-7 Pa, kutya: 5-6 Pa) (35. ábra).

**V. táblázat:** Hím és nőstény Sprague-Dawley (SD) patkányok (n=10-10) és beagle kutyák (n=10-10) különböző viszkozitású PVP oldatokban (15, 20, 30 mPas) mért vörösvérsejt deformabilitását leíró elongációs index (EI)-nyírófeszültség (SS) görbék parametrizált összehasonlító adatai.

Paraméter	Faj	Nem	A PVP oldat viszkozitása		
			15 mPas	20 mPas	30 mPas
EI 3 Pa-nál	SD patkány	hím	0,271 ± 0,02 *	0,299 ± 0,02 *	0,322 ± 0,02
		nőstény	0,277 ± 0,02 *	0,308 ± 0,02 *#	0,334 ± 0,02 #
	Beagle kutya	hím	0,246 ± 0,01 *	0,271 ± 0,02 *	0,299 ± 0,01
		nőstény	0,240 ± 0,02 *	0,264 ± 0,02 *	0,297 ± 0,01
EI <sub>max</sub>	SD patkány	hím	0,539 ± 0,01 *	0,570 ± 0,01 *	0,592 ± 0,02
		nőstény	0,538 ± 0,01 *	0,562 ± 0,01 *#	0,585 ± 0,02
	Beagle kutya	hím	0,611 ± 0,05	0,631 ± 0,03 *	0,604 ± 0,02
		nőstény	0,598 ± 0,03	0,618 ± 0,02	0,602 ± 0,02
SS <sub>1/2</sub> [Pa]	SD patkány	hím	3,22 ± 0,62 *	3,06 ± 0,65 *	2,76 ± 0,47
		nőstény	3,01 ± 0,46 *	2,72 ± 0,42 *#	2,48 ± 0,42 #
	Beagle kutya	hím	4,89 ± 1,2 *	4,54 ± 0,93 *	3,37 ± 0,49
		nőstény	4,86 ± 0,81 *	4,44 ± 0,52 *	3,46 ± 0,42

átlag ± S.D., \* p<0,05 vs. 30 mPas, # vs. hím

EI = elongációs index; EI<sub>max</sub> = maximális EI; SS<sub>1/2</sub> = az EI<sub>max</sub> feléhez tartozó nyírófeszültség érték



**35. ábra**

Hím és nőstény SD patkányok (n=10-10) (A-C) és beagle kutyák (n=10-10) (D-F) elongációs index (EI) értékeinek variációs koefficiense (CV%) a nyírófeszültség függvényében 15 mPas (A, D), 20 mPas (B, E) és 30 mPas (C, F) viszkozitású PVP oldatokban mérve. átlag ± S.D.; A szaggatott vonal az 5%-os értékhatárt jelzi

### *Konklúzió:*

Az adatok az ektacytometriás méréseknél alkalmazott PVP oldatok elkészítésekor adódó viszkozitás különbségek okozta szignifikáns mértékű elongációs index eltérésekre hívhatják fel a figyelmet, támpontot nyújtva a kísérletek eredményeinek összehasonlíthatóságához.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, Magyar Zs, Furka I, Mikó I, Németh N, Korea-Aust Rheol J 2010;22:113-118.

## **5.7. Új adatelemzési és interpretálási módszer az ozmotikus gradiens ektacytometria mérésekhez**

### *Háttér, célkitűzés:*

A vörösvérsejtek deformabilitását jelentősen befolyásolják a mikrokörnyezeti tényezők, mint a pH és az ozmolaritás.<sup>7,52,108,190,263,282,335,347</sup> Utóbbi főként a sejtek térfogat változásából adódóan okoz deformabilitási eltéréseket, amint a sejtek zsugorodnak vagy duzzadnak a változás nagyságától és irányától függően az optimális állapothoz képest. Az ozmotikus gradiens ektacytometriát (osmoscan) az 1980-as évek elején fejlesztették ki, amely a vörösvérsejt deformabilitást méri állandó nyírófeszültség és fokozatosan változó ozmolalitás alkalmazása mellett.<sup>35,69</sup> A mérések során jellegzetes elongációs index (EI)-ozmolalitás (O) görbét nyerünk (16. ábra). Az osmoscan görbe maximumpontja azt az ozmolalitást reprezentálja, amely értéknél a vörösvérsejtek a lehető legnagyobb mértékben tudnak elongálódni az adott nyírófeszültség hatására.<sup>69</sup>

Ezekhez a mérésekhez nagy precizitású ektacytometriás mérések kellenek, amelyek nagy fejlődést mutattak az 1990-es években. Mégis jónéhány év telt el, mire a legújabb rotációs ektacytometriás méréseknél is beépítésre került az osmoscan funkció.<sup>137</sup>

Az ozmotikus gradiens ektacytometria igen érzékeny módszer a vörösvérsejt deformabilitás analízisére és egyúttal az optimális ozmolalitás tartomány vizsgálatára is lehetőséget ad normál és pathophysiologiás körülmények között. Az EI-O görbék alakja igen nagy variabilitást mutathat függően a celluláris tulajdonságoktól (mechanikai sajátságok, denzitás, morphologia). Haematologiai betegségekben, amikor a vörösvérsejtek morphológiája, struktúrája és a sejtfelszín/térfogat arány megváltozik, ez a módszer is informatív kiegészítője lehet a diagnosztikus paramétereknek.<sup>32,37,69,84,110,150,200,297</sup> Mások mellett Deuel és munkatársai hyperchromatosus vörösvérsejt szubpopulációt is jól tudtak elemezni e módszerrel.<sup>89</sup> Ballas és Schmidt karakterisztikus osmoscan adatokat közöltek sarlósejtes anaemiában.<sup>12</sup> Stomatocytosisban,<sup>2,88,303</sup> de legfőképpen hereditær elliptocytosis és spherocytosis esetén az ozmotikus gradiens ektacytometria akár diagnosztikus értékű lehet.<sup>40,85,86,150,248,332</sup>

Ugyanakkor a módszertani körülmények eltérőek lehetnek, hiszen az eredményeket befolyásolja az alkalmazott nyírófeszültség nagysága. Az irodalomban elérhető legtöbb adat



olyan mérésekből származik, amelyeknél 20 vagy 30 Pa nagyságú nyírófeszültséget alkalmaztak, különösebb magyarázat nélkül. Felmerül a kérdés, hogy mennyire összehasonlíthatóak ezek az adatok. Nem ismert, hogy az osmoscan eredmények 1, 2, 3, 5, 10, 20 vagy 30 Pa nyírófeszültségnél mennyiben különböznek egymástól. Mennyire összehasonlítható a magasabb nyírófeszültség mellett nyert eredmény az *in vivo* viszonyokkal, ahol 10 Pa feletti nyírófeszültség ritkaság?<sup>196,197</sup> Ezirányú optimalizációról Heo és mtsai, 2015-ben megjelent munkája<sup>141</sup> és szintén ebben az évben közölt tanulmányunkon kívül összehasonlító analízisről szóló nem tudunk az irodalomban.

Mennyiben változik az osmoscan görbék karakterisztikája és a görbékől származtatott paraméterek értékei a mérésekhez alkalmazott nyírófeszültség függvényében? Az eltérések mutatnak-e különbséget kísérleti/laboratóriumi állatfajok és az ember összehasonlításában? Az osmoscan görbék morfológiai változásai miként interpretálhatóak? A görbék mely paraméterei bírnak jelző értékkel bizonyos deformabilitás romlás esetén? Milyen új paraméterek kalkulálhatóak az EI-O adatsorokból, amelyek a vörösvérsejt deformabilitás romlást érzékenyen jelezhetik? Vizsgálatainkat e kérdések megválaszolására terveztük.

#### *Anyagok és módszerek:*

Az összehasonlító haemorheológiai vizsgálatokra megadott engedély birtokában (19/2011. DEMÁB) a reggeli órákban vérvétel történt 9 hím CD outbred patkányból ( $371,9 \pm 28,3$  g) a laterális farokvéna punctiója révén, 6 hím és nőstény beagle kutyából ( $11,2 \pm 1$  kg) a vena cephalicából, valamint 15 nőstény juvenilis Hungahib sertésből ( $18,2 \pm 2,7$  kg) a vena saphena medialis punctiójával. A vérmintákat zárt vérvételi rendszerben vettük le (Vacutainer<sup>®</sup>, K<sub>3</sub>-EDTA, 1,8 mg/ml) 22 G-s tű használatával, kivéve patkányok esetén, ahol 25 G-s tűvel közvetlenül az anticoagulanst tartalmazó fecskendőbe vettük a vért. A human vérminták 15 önkéntes, egészséges felnőtt férfitol és nőtől (26-40 éves) származtak (engedélyszám: DE OEC RKEB/IKEB 3625-2012). A vérminták vétele a reggeli órákban történt, az antecubitalis vénák egyikéből. Az anticoagulans K<sub>3</sub>-EDTA volt.

A tanulmány egyik alfejezetében 5 egészséges önkéntes (a fenti csoportból) vérmintája centrifugálásra került (800 g, 10 perc, 15 °C), a sejteket izotóniás foszfát pufferben (PBS) mostuk, majd 40% haematocritú (v/v) vörösvérsejt-PBS szuszpenziót készítettünk, amelyeket 0,001 % vagy 0,005 % glutáraldehiddel (GA) kezeltünk.<sup>81,223</sup> A célunk az volt, hogy a rigidde tett sejtek deformabilitás romlásának mértékét meghatározhassuk, vizsgálva azt, hogy ez mennyiben manifesztálódik az osmoscan adatokban. Kerestük a legérzékenyebb klasszikus vagy új osmoscan paramétereket, amelyek a legjobban képesek leírni e különbségeket.

A mérések során meghatározásra került az elongatiós index az ozmolalitás függvényében, ezek adatsorából kalkulálja a készülék a 4.1.3. fejezetben ismertetett leíró paramétereket, mint az osmoscan görbe nevezetes pontjai (maximális elongatiós index, a hypoosmolaris tartományban meghatározható minimális elongatiós index, a maximális elongatiós index hyperosmolaris tartományba eső 50%-os értéke, az ezekhez tartozó

ozmolalitás értékek), valamint a görbe alatti terület Area parameter (16. ábra). Ezek ismeretében az osmoscan görbék morphológiáját és főképpen a minimális és maximális elongatiós index közötti görbeszakasz jellegzetességeit továbbbelemelve kalkuláltuk az alábbi új, az irodalomban eddig nem használt paramétereket:

- $\Delta EI$  = a maximális és a minimális EI értékek közötti különbség
- $\Delta O$  = a maximális és a minimális EI értékekhez tartozó ozmolalitás értékek különbsége
- $\Delta EI / \Delta O$
- $EI_{max} / EI_{min}$  = a maximális és a minimális EI értékek egymáshoz viszonyított aránya (rEI)
- $O(EI_{max}) / O_{min}$  = a maximális és minimális EI értékekhez tartozó ozmolalitás értékek egymáshoz viszonyított aránya (rO)
- $rEI / rO$

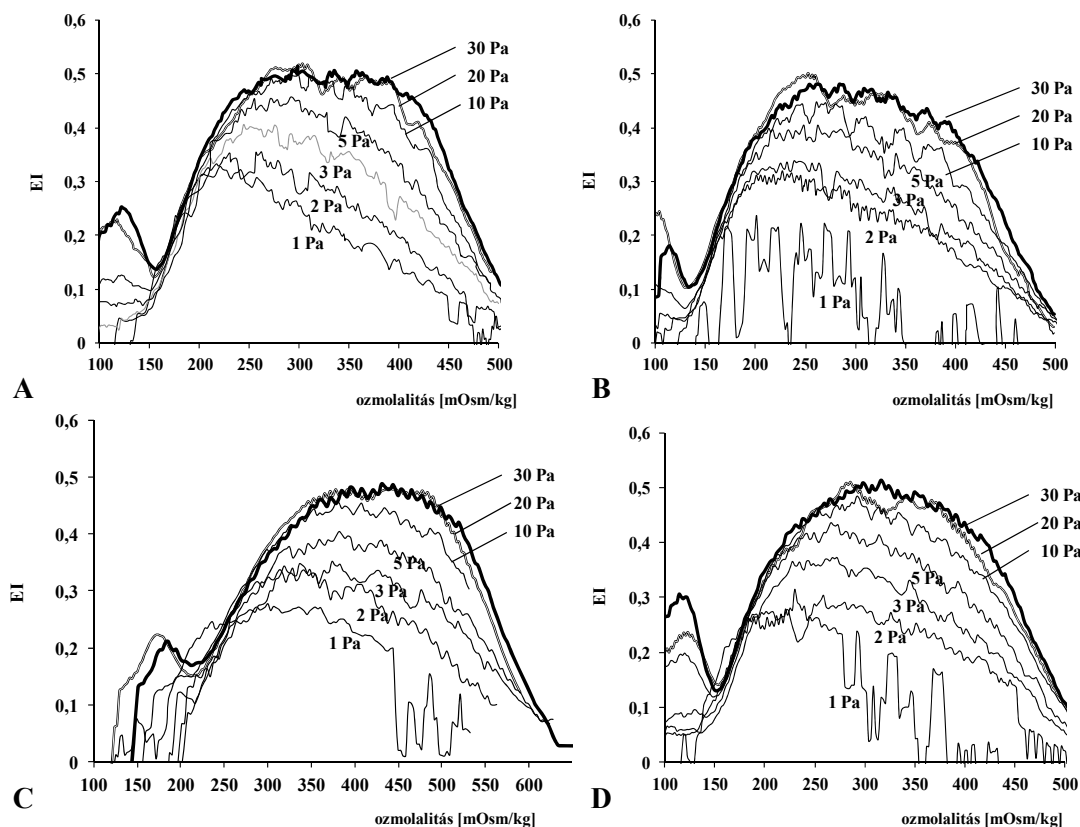
#### *Eredmények:*

Az EI-O görbék a legszabályosabb és legstabilabb lefutást a 20 és 30 Pa nagyságú nyírófeszültség érték alkalmazásával mutatták. A 36. ábra a patkány, kutya, sertés és human vérminták reprezentatív osmoscan görbéit mutatja a különböző nyírófeszültségek alkalmazása mellett. 10 Pa alatt a görbék maximum pontja fokozatosan balra és lefelé tolódott és a hyperosmoticus tartományban gyakran unduláció jelent meg az EI adatokban. Alacsonyabb nyírófeszültség alkalmazása mellett ez a jelenség még kifejezettebbé vált, és nagyságát tekintve jól látszott a fokozatosság is. Ez a tendencia 2-3 Pa-ig konzekvensnek tűnt. 1 Pa-ig végzett mérések esetén a görbék extrém mértékben váltak irregulárisra, főként a kutya, sertés és human vérmintában - gyakorlatilag értékelhetetlen görbeszakaszokat is adva. Patkányok esetében még az 1 Pa-ig végzett mérések is stabilnak tűntek (36. ábra).

A klasszikus osmoscan paraméterek jól tükrözték ezeket a különbségeket. A maximális elongatiós index ( $EI_{max}$ ) értékek 20 és 30 Pa nyírófeszültség mellett a kutya és a sertés vérmintákban mutatták a legalacsonyabb értékeket. Ennél magasabb érték adódott patkány vérmintában, míg a legmagasabb értékeket a human vérminták mutatták. Ezek a fajok közötti különbségek eltűnni látszódtak, ahogy a mérésekhez alkalmazott nyírófeszültség is csökkent. Az  $EI_{max}$  értékekhez tartozó ozmolalitás a legmagasabb értékeket a sertés vérmintában mutatta, ennél alacsonyabbat mértünk a human, a kutya és a patkány vérmintákban, ebben a sorrendben. Az  $EI_{max}$  értékek 20 és 30 Pa összehasonlításában nem mutattak említésre méltó különbséget, habár 20 Pa-nál igen kismértékű csökkenés ugyan, de már látszott. Az  $O(EI_{max})$  esetén az adatok már jelentősebben különböztek, már 20 és 30 Pa között is. Az  $O(EI_{max})$  csökkenése az alkalmazott nyírófeszültség esetében (1-30 Pa) közel lineáris volt (patkány  $R^2=0,907$ , kutya  $R^2=0,955$ , sertés  $R^2=0,979$ , humán  $R^2=0,986$ ).

A hyperosmolaris tartomány paraméterei a maximális EI értékek által meghatározottak, hiszen ennek felét jelenti az EI hyper. Az adatok egyértelműen mutatták az előzőekben leírt változásokat, a sertés vérmintákban jól látszott az osmoscan görbék magasabb ozmolalitás

értékek felé való eltolódása. A minimális elongációs érték és a hozzá tartozó ozmolalitás jelzi azt a pontot, amely alatt a legtöbb vörösvérsejt rupturál, amint tovább csökken az ozmolalitás. Amikor az osmoscan görbék morphológiája szabályos volt, ez a pont egyértelműen meghatározóvá vált, de 3-5 Pa alatt a görbék ezen szakaszának lefutása szabálytalanná vált, így a paraméterek meghatározása is bizonytalan volt.

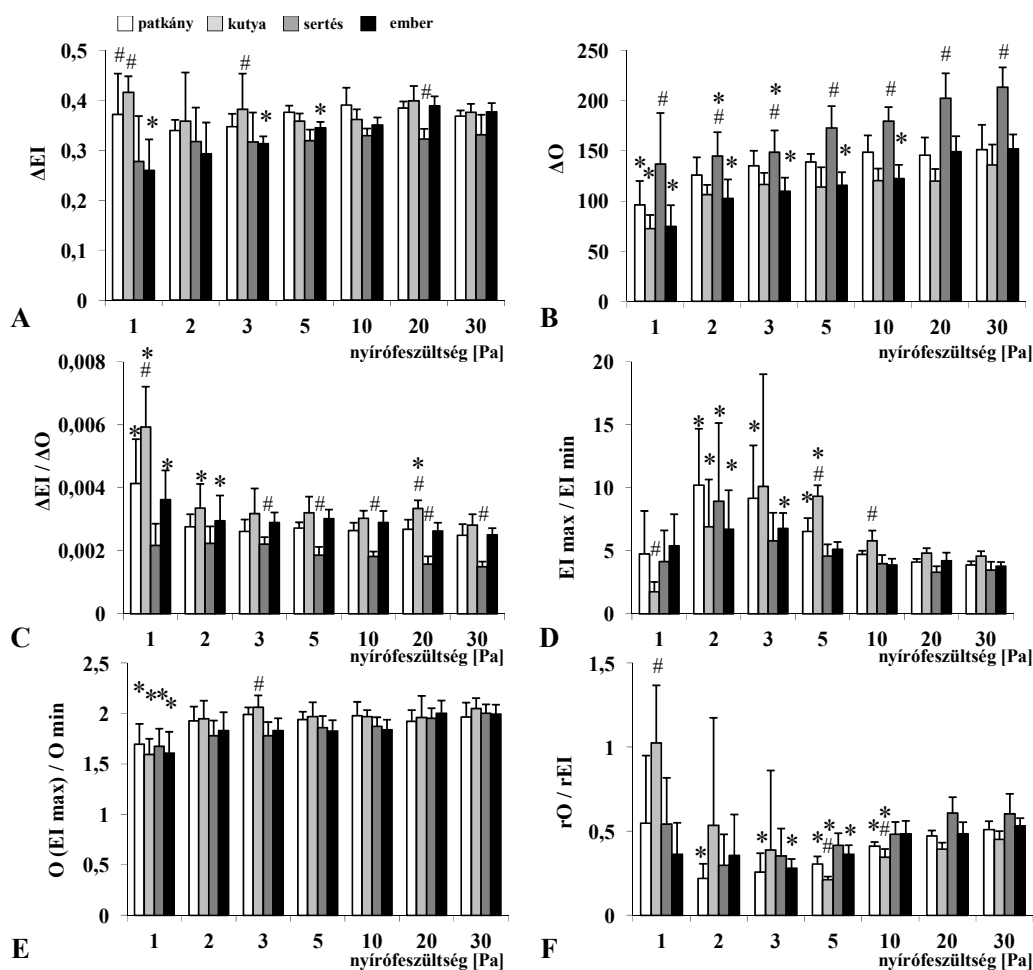


**36. ábra**

Patkány (A), beagle kutya (B), sertés (C) és emberi (D) vérminták  
1, 2, 3, 5, 10, 20 és 30 Pa nyírófeszültség alkalmazása mellett meghatározott reprezentatív  
elongációs index (EI) – ozmolalitás [mOsm/kg] (osmoscan) görbéi

Az alkalmazott nyírófeszültség csökkentésével az elongációs index-ozmolalitás görbék alatti terület (Area) is egyre zsugorodott. 10 Pa és ennél kisebb nyírófeszültség értékeknél az Area értékek szignifikánsan alacsonyabbak voltak a 30 Pa-hoz képest valamennyi vizsgált faj vérmintáiban. A fennálló fajok közötti különbség egészen 2 Pa-ig jól követhető volt: a legmagasabb értékeket a humán és a patkány, a legalacsonyabbakat a kutya és a sertés vérminták adták.

A 37. ábra az általunk kalkulált új paramétereket mutatja. A  $\Delta EI$  értékek közel azonosak voltak patkány, kutya és humán vérmintákban 20 és 30 Pa mellett végzett méréseknél, míg a sertés adatok ennél jóval alacsonyabbak voltak, hiszen az EI max is sokkal alacsonyabb, míg az EI min magasabb volt sertésekben.

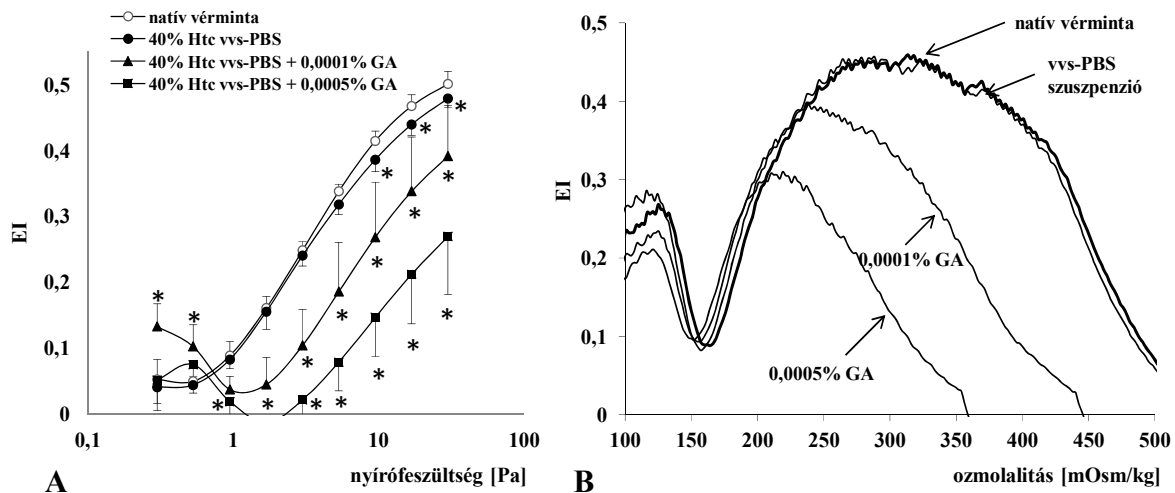


37. ábra

Patkány (n=9), beagle kutya (n=6), sertés (n=15) és emberi (n=15) vérminták 1, 2, 3, 5, 10, 20 és 30 Pa nyírófeszültség alkalmazása mellett meghatározott elongációs index (EI) – ozmolalitás (O, [mOsm/kg]) görbéinek klaszikus paramétereiből származtatott új paraméterek. átlag  $\pm$  S.D., \* $p < 0,05$  vs. alap (ANOVA post hoc), # $p < 0,05$  vs. ember (Student t-test/Mann-Whitney RS teszt)

Az alkalmazott nyírófeszültség csökkenésével a fajok közötti különbség egyre kifejezettebbé vált, a human adatok nagyarányú csökkenést mutattak (37. ábra, A). Ez a csökkenő tendencia még kifejezettebb volt a  $\Delta O$  estében. A legmagasabb értékeket a sertés vérminták adták, mindvégig jelezve az osmoscan görbék szélesebb mivoltát a többi fajhoz képest (37. ábra, B). E két paraméter aránya ( $\Delta EI / \Delta O$ ), ezért a legalacsonyabb a sertés vérmintában volt. Érdekes volt megfigyelni, hogy a patkány és a human adatok nagyon közel álltak egymáshoz, míg más interspecies különbség az alkalmazott nyírófeszültség csökkentésével egyre kontrasztosabbá vált (37. ábra, C).

Az  $EI_{max} / EI_{min}$  (rEI), valamint az ezekhez tartozó ozmolalitás értékek ( $O(EI_{max}) / O_{min}$ , rO) és ezek egymáshoz viszonyított aránya ( $rEI / rO$ ) a legnagyobb különbségeket 5 Pa alatt mutatta (37. ábra, D,E). Míg a rO értékek inkább fokozatos csökkenést mutattak a nyírófeszültség csökkenésével, addig a rEI értékek a legmagasabb értékeket 2-5 Pa között mutatták, mint kiugró csúcsot képezve. A rEI/rO értékek 3 Pa-ig csökkentek, majd 1 Pa-nál újra emelkedni látszódtak, vélhetően az osmoscan görbék irregularitása miatt (37. ábra, F).



38. ábra

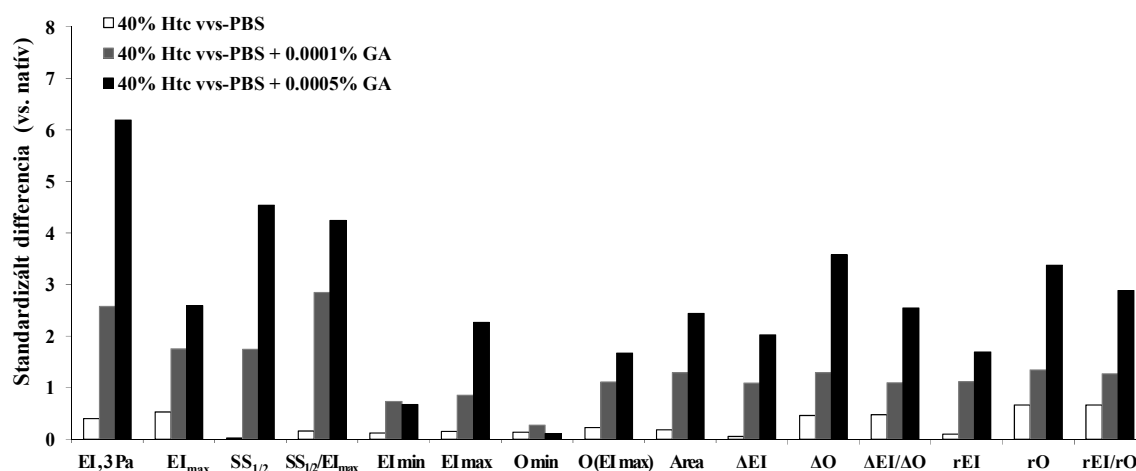
Emberi natív vérminták (n=5) és az azokból készített 40%-os haematocritú (Htc) vörösvérsejt (vvs) – normál foszfátpuffer (PBS) szuszpenziók és 0,0001% vagy 0,0005% glutáraldehiddel (GA) kezelt almintáinak elongációs index (EI) – nyírófeszültség [Pa] görbéi (A), valamint reprezentatív EI – ozmolalitás [mOsm/kg] görbéi (B).  
 átlag ± S.D., \*p<0,05 vs. alap (páros t-teszt/Wilcoxon-teszt) (A)

A rigiddé tett vörösvérsejtek osmoscan vizsgálatai során, amelyet 5 önkéntes vérmintáján végeztünk, a natív mintákhoz hasonlítva vörösvérsejtek deformabilitási paraméterei nem mutattak kiugró mértékű változást a minta előkészítés során, a 40%-os vörösvérsejt PBS szuszpenzióban. Habár sem a mennyiségi, sem a minőségi haematologiai paraméterek nem változtak a glutáraldehides kezelés során (0,001 % vagy 0,005 % GA), a deformabilitás értékek -ahogy az várható is volt- fokozatos és nagymértékű csökkenést mutattak, mind a natív, mind a kezelés nélküli vörösvérsejt szuszpenzió adatokhoz képest (38. ábra, A). Az osmoscan mérések során is egyértelműen kimutatható volt a deformabilitás romlással párhuzamosan csökkenő EI max és O (EI max) értékek, az Area zsugorodása: az egész osmoscan görbe balra lefelé tolódása révén (38. ábra, B).

A glutáraldehides kezelés tehát koncentráció függően szignifikáns mértékű vörösvérsejt deformabilitás romlást idézett elő egyértelműen romló osmoscan eredmények mellett. Vizsgálva, hogy mely paraméterekkel fejezhető ki legérzékenyebben a deformabilitás romlás (a vizsgálat ereje), kiszámításra kerültek a Cohen-módszer szerint kalkulált standardizált differencia értékek az alábbiak szerint:

$$\text{standardizált differencia} = \frac{\text{átlag}_{\text{kontroll}} - \text{átlag}_{\text{kezelt}}}{\sqrt{\sum (S.D.^2_{\text{kontroll}} ; S.D.^2_{\text{kezelt}})}}$$

azaz a két összehasonlítandó csoport adatai átlagának különbsége osztva a csoportok négyzetre emelt standard deviáció értékeinek átlagából vont négyzetgyök értékével. Minél magasabb az adott összehasonlításban a standardizált differencia értéke, annál érzékenyebb az adott módszer vagy paraméter a fennálló különbségek kimutatására.<sup>298</sup>



**39. ábra**

Emberi natív vérmintákból (n=5) készített 40%-os haematocritú (Htc) vörösvérsejt (vvs) – normál foszfátpuffer (PBS) szuszpenziók és 0,0001% vagy 0,0005% glutáraldehiddel (GA) kezelt almintáinak deformabilitási, klasszikus és új osmoscan paramétereinek a natív (kontroll) vérminták értékeihez viszonyítottan kalkulált standardizált differencia értékek.

$$\text{standardizált differencia} = \frac{\text{átlag}_{\text{kontroll}} - \text{átlag}_{\text{kezelt}}}{\sqrt{\sum (S.D.^2_{\text{kontroll}} ; S.D.^2_{\text{kezelt}})}}$$

Deformabilitás romlás (pl. 0,005 % GA kezelés révén) a legnagyobb érzékenységgel a 3 Pa-nál mért EI (6,19), az  $SS_{1/2}$  (4,53), és a  $EI_{\max} / SS_{1/2}$  (4,24) paraméterekkel volt kimutatható. Sorrendben magas standardizált differencia értékeket (>2) találtunk az osmoscan adatokban leginkább az újonnan kalkulált paraméterek esetén:  $\Delta O$  (3,57) >  $rO$  (3,37) >  $rEI/rO$  (3,19) >  $\Delta EI/\Delta O$  (2,54) > Area (2,43) >  $EI_{\max}$  (2,26) >  $\Delta EI$  (2,02) (39. ábra). Ezek az eredmények azt sugallják, hogy az osmoscan görbék új kalkulált paraméterei a klasszikus paramétereknél érzékenyebben jelzik a vörösvérsejt deformabilitásban bekövetkező romlást.

#### Összegzés, konklúzió:

Az elongációs index – ozmolalítás görbékben rejlő információtartalom jobb kiaknázása érdekében új kalkulált paramétereket alkalmaztunk. A főbb eredményeket az alábbiakban foglalhatjuk össze: (1) Az osmoscan adatok 20 vagy 30 Pa nyírófeszültség alkalmazása mellett nem térnek el szignifikánsan egymástól. (2) 20 Pa nyírófeszültség alatt az  $EI_{\max}$ , az  $O(EI_{\max})$ , az  $EI_{\min}$  és az Area paraméterek közel lineárisan csökkennek a nyírófeszültség függvényében, különböző meredekséggel a vizsgált fajok vérmintáiban. (3) 3 Pa nyírófeszültség alatt a mérések egyre nagyobb mértékben válnak instabillá. (4) Az új kalkulált paraméterek, mint a minimális és maximális EI abszolút és relatív különbsége ( $\Delta EI$ ,  $rEI$ ) a hozzátartozó ozmolalítás értékek ( $\Delta O$ ,  $rO$ ), valamint ezek egymáshoz viszonyított arányszámai ( $\Delta EI/\Delta O$  és  $rEI/rO$ ) alkalmasnak tűnnek az osmoscan görbék részletesebb analizésére. A paraméterek vörösvérsejt deformabilitás változás során mutatott erejét vizsgálva glutáraldehiddel rigidde tett vörösvérsejteket a legmagasabb standardizált differencia értékeket a  $\Delta O$ , a  $rO$ , a  $rEI/rO$  és a  $\Delta EI/\Delta O$  paraméterek esetén találtuk.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Németh N, Kiss F, Miszti-Blasius K, Scand J Clin Lab Invest 2015;75:213-222.

## 6. FAJI- ÉS NEMI HAEMORHEOLOGIAI KÜLÖNBSÉGEK VIZSGÁLATA

### 6.1. Fajok közti haemorheologiai eltérések és hasonlóságok

#### *Háttér, célkitűzés:*

A vér áramlástan tulajdonságainak faji diverzitása nagy. Az irodalomban fellelhető komparatív haemorheologiai közlemények a magvatlan birkonkáv vörösvérsejtekkel rendelkező emlősök haemorheologiai különbségeivel foglalkoznak.<sup>28,60,62,162,236,253,255,320,342,343</sup> A halak, kételtűek, hüllők és madarak vörösvérsejtjeiben nucleus található, alakjuk ovalocytá, volumenük is általában nagyobb, mint az emlősök erythrocytáinak. Az ovalocytá jellemezhető deformabilitással, azonban az alaki sajátságok miatt aggregációra nem képes, szemben a birkonkáv sejtalakkal. Ugyanakkor az aggregatio mutatja a legszínesebb faji diverzitást. Ismertek állatfajok, amelyek vörösvérsejtjei nem vagy alig aggregálódnak (pl. egér, juh, kecske, szarvasmarha), másoké közepes mértékű (pl. patkány, kutya, sertés), vagy nagyfokú aggregációra képes (pl. macskafélék, antilop, ló).<sup>253,342,343</sup> Jelenleg nincs olyan teória, amely meggyőzően magyarázná ezeket a színes különbségeket. Különböző tanulmányok elemzik a filogenetikai sajátságokat, a környezeti faktorokat, az életmódbeli (atletikus vagy szedentárius jellegű életmódot folytató faj)<sup>255</sup> és táplálkozási jellegzetességeket (növényevő, mindenevő, vagy húsevő), de egységes elmélet a faji diverzitás hátterének magyarázatára még nincs.<sup>343</sup>

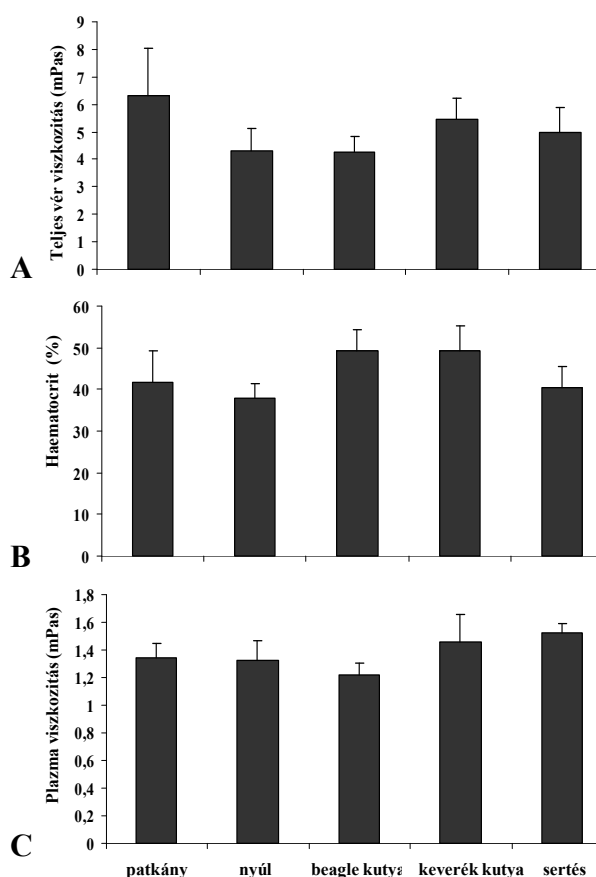
Ezek a komparatív vizsgálatok a humán haemorheologiai pathológiás eltérések jobb megértését is szolgálhatják (pl. vörösvérsejt morphologiai eltérések kapcsán) amellet, hogy a kísérletes orvostudomány számára nyújtanak összehasonlító adatokat. A Tanszék Haemorheologiai Kutatólaboratóriumában 2002 óta folynak a szisztematikus összehasonlító vizsgálatok különböző kísérleti/laboratóriumi állatfajok (inbred egér, outbred patkány, outbred nyúl, keverék és beagle kutya, sertés), valamint az utóbbi néhány évben humán vérminták haemorheologiai paramétereinek elemzésére. Egy részüket az előző fejezetekben ismertetett mérés technikai tanulmányok keretében, másokat célzott kérdéskörrel, adott haemorheologiai paraméter fajok közötti különbségeinek feltárása érdekében végeztük. A teljes vér- és plazma viszkozitás, a vörösvérsejt deformabilitás (filtrometria és ektacytometria), valamint a vörösvérsejt aggregatio vonatkozásában jelentős faji különbségek voltak kimutathatóak. Ebben a fejezetben az eddigi összehasonlító adatok szerepelnek.

A vizsgált fajok teljes vér viszkozitása nem minden tekintetben áll összhangban a haematocrittal vagy a plazma viszkozitással (40. ábra), amely felveti a viszkozitás-haematocrit kapcsolat fajspecifikus sajátságainak lehetőségét, valamint alátámasztja a micro-rheologiai paraméterek eltérő mértékű viszkozitás-befolyásoló hatását.

A vér oxigénszállító kapacitása szempontjából fontos paraméter a teljes vér viszkozitás haematocrithez való viszonya, amely jó közelítéssel exponenciális karakterisztikájú görbével jellemezhető. A haematocrit/viszkozitás hányados a haematocrit függvényében parabolikus profilt mutat. A görbe csúcsa az „optimális haematocrit”-nak felel meg, ahol a lehető legmagasabb haematocrit a lehető legalacsonyabb viszkozitással párosul az oxigénszállító

kapacitás és a vér fluiditása szempontjából. Számos kórképben megfigyelték, hogy az „optimális haematocrit” jelentősen eltolódik az élettani értékekhez képest.<sup>42,100,120,142,145,293</sup>

Állatkísérletes vonatkozásban erről kevés adat ismert: főként konstans haematocrit értékek melletti haematocrit/viszkozitás adatok érhetőek el, illetve számolhatóak ki. A haematocrit, a vörösvérsejt alak és térfogat, valamint a vér- és plazma viszkozitásban megfigyelhető faji különbségek alapján feltételezhető, hogy az „optimális haematocrit” különbözhet a laboratóriumi állatfajok között.



**40. ábra**

CD outbred patkány (n=48), outbred nyúl (n=10), beagle kutya (n=30), keverék kutya (n=30) és sertés (n=12) teljes vér viszkozitása ([mPas], sebesség-gradiens:  $90 \text{ s}^{-1}$ ) (A), haematocrit [Htc (%)] (B) és plazma viszkozitása [mPas] (C).  
 átlag  $\pm$  S.D. (Hevimet-40 kapilláris viszkoziméter)  
 (Németh N, Magyar Állatorvosok Lapja 2011;133: 612-619.)

#### Anyagok és módszerek:

A kérdéskör részletesebb vizsgálatára kísérletünkben (engedélyszám: 6/2006. és 37/2007. DE MÁB) 12 CD patkánytól ( $458 \pm 37 \text{ g}$ ) altatásban ( $35 \text{ mg/kg}$  Na-pentobarbital, i.p.) a szívből 10-14 ml vért vettünk 10 U/ml Na-heparin tartalmazó fecskendőbe, és 12 beagle kutyától ( $10,7 \pm 1,9 \text{ kg}$ ) a vena cephalica punctiójával 14 ml vért bocsátottunk le Na-heparinnal bevont falú Vacutainer<sup>®</sup> csövekbe (10 U/ml). Mindegyik vérmintát 7 részre osztottuk. Ebből az első számított a natív vérmintának, a többiből centrifugálással (500 g, 5 perc) nyert autológ plazma hozzáadásával vagy elvételével különböző haematocritú mintákat készítettünk (haematocrit: 20-65%). Célunk minél szélesebb haematocrit tartomány vizsgálata volt. A haematologiai paraméterek meghatározása mellett a teljes vér- és plazma viszkozitást Hevimet-40 kapilláris viszkoziméterrel mértük. A vörösvérsejt deformabilitást Rheoscan-D200 ektacytometerrel, a vörösvérsejt aggregációt Myrenne MA-1 aggregometerrel határoztuk meg.

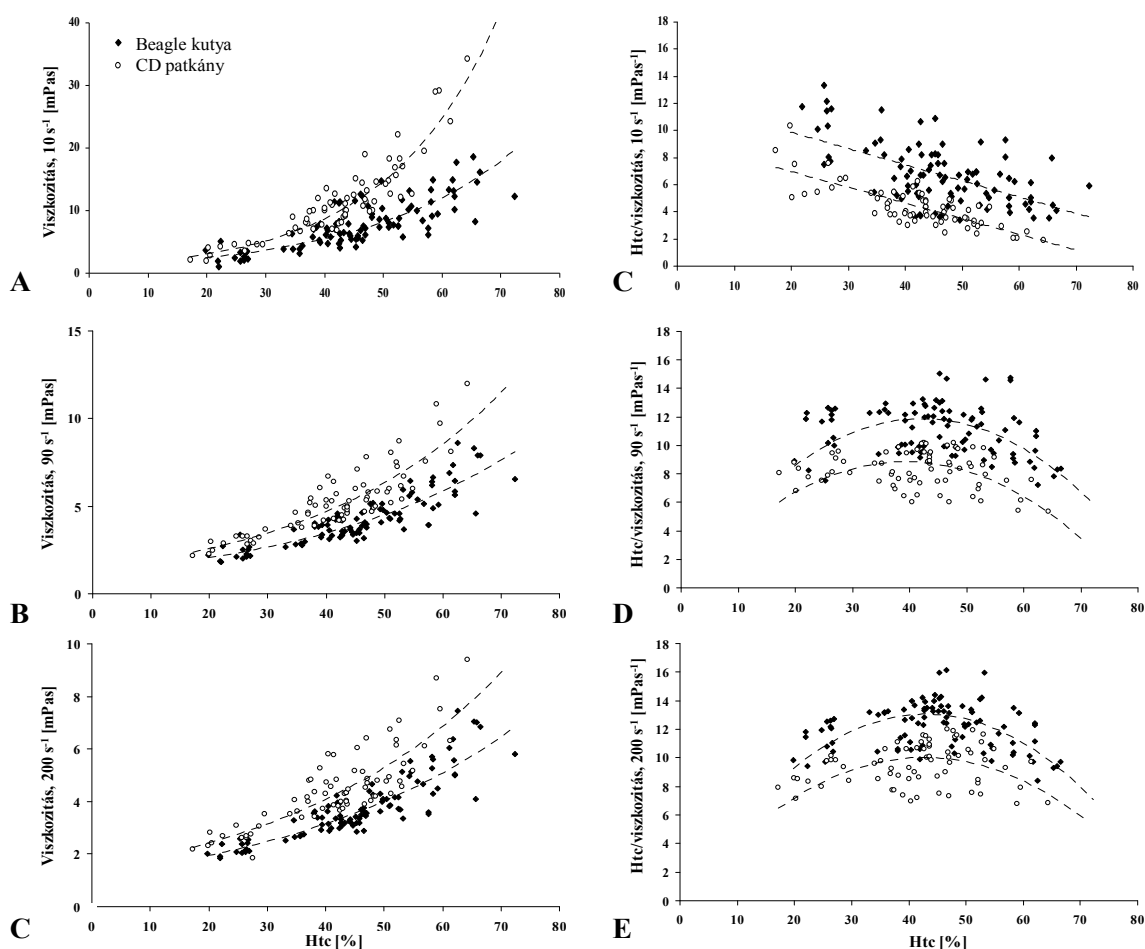


### Eredmények:

A haematocrit és plazma viszkozitás nem mutatott különbséget a patkány és kutya vérminták között ( $44,46 \pm 2,98\%$  vs.  $45,91 \pm 4,57\%$ ,  $p=0,377$ ;  $1,1 \pm 0,07$  mPas vs.  $1,11 \pm 0,06$  mPas,  $p=0,735$ ), patkányban kisebb átlagos vörösvérsejt térfogat ( $53,68 \pm 2,19$  fl vs.  $70,03 \pm 3,26$  fl,  $p<0,001$ ) és nagyobb vörösvérsejtszám volt mérhető ( $8,21 \pm 0,65 \times 10^6/\mu\text{l}$  vs.  $6,6 \pm 0,64 \times 10^6/\mu\text{l}$ ,  $p<0,001$ ), mint beagle kutyákban.

A vörösvérsejt aggregatio index értékek jelentősen nagyobbak voltak beagle kutyában, mint patkányban (M 5 s:  $16,98 \pm 2$  vs.  $3,77 \pm 1,51$ ,  $p<0,001$ ; M1 5 s:  $21,94 \pm 1,67$  vs.  $12,08 \pm 3,64$ ,  $p<0,001$ ). A vörösvérsejt deformabilitás elongatiós index értékei (3 Pa-nál) patkányban bizonyultak szignifikánsan magasabbnak a kutya értékeihez képest ( $0,371 \pm 0,009$  vs.  $0,244 \pm 0,032$ ,  $p<0,001$ ). Mindez jobb vörösvérsejt deformálhatóságra, de kevésbé kimutatható aggregációs készségre utalhat a patkányok vérmintáiban.

Patkányoknál jóval magasabb viszkozitás értékeket mértünk, a viszkozitás-haematocrit görbék meredeksége nagyobb volt, mint beagle kutyáknál. A görbéket illesztett lineáris és exponenciális függvények matematikai analízisével hasonlítottuk össze. A különbségek az elemzett 10, 90 és  $200 \text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiens értékeknél szignifikánsnak bizonyultak (42%, 30%, 26%;  $p<0,001$ ) (41. ábra, A-C).

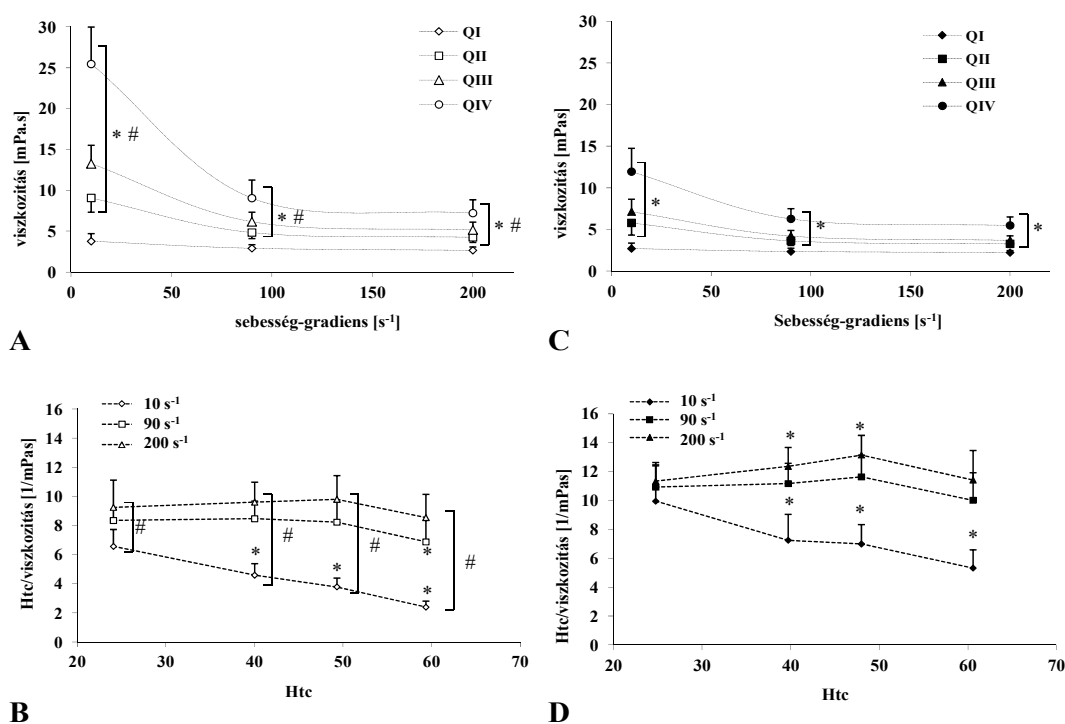


41. ábra

CD outbred patkány ( $n=12$ ) és beagle kutya ( $n=12$ ) vérviszkozitás [mPas] (A-C) és haematocrit/vérviszkozitás [ $\text{mPas}^{-1}$ ] (D-F) 10, 90 és  $200 \text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért értékei a haematocrit (Htc) függvényében.

A haematocrit/viszkozitás görbéket Gauss-típusú illesztett függvény matematikai analízisével hasonlítottuk össze. A  $10\text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért értékeknél nem volt csúcsa a görbéknek: a haematocrit/viszkozitás arány közel lineáris csökkenést mutatott a haematocrit függvényében (patkány:  $r=-0,786$ ,  $p<0,001$ ; beagle kutya:  $r=-0,581$ ,  $p<0,001$ ).  $90$  és  $200\text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért értékeknél illeszthető volt a Gauss-görbe ( $90\text{ s}^{-1}$  patkány:  $r=0,349$ ,  $p=0,0119$ ; beagle kutya:  $r=0,376$ ,  $p=0,0009$ ;  $200\text{ s}^{-1}$  patkány:  $r=0,361$ ,  $p=0,0091$ ; beagle kutya:  $r=0,531$ ,  $p<0,001$ ), amelyből kalkulálható volt az „optimális haematocrit” érték:  $90\text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél patkányban  $36,5\%$ , beagle kutyában  $39,7\%$ ; míg  $200\text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél patkányban  $43,2\%$ , beagle kutyában  $42,4\%$  (41. ábra, D-F).

Összehasonlító jelleggel a haematocrit értékek eloszlását négy tartományra (quadrans I-IV) osztottuk, amelyet a 42. ábra mutat be. Az adatokból jól látszik, hogy patkánynál az alacsonyabb sebesség-gradiens értékeknél a haematocrit viszkozitásnövelő hatása erőteljesebb, mint beagle kutyánál. Ez a fokozottabb aggregatio tényét veti fel. Azonban, a Myrenne MA-1 aggregométerrel mért aggregációs index értékek a beagle kutyáénál alacsonyabbak voltak, ráadásul a patkány elongatiós index értékek magasabbak voltak, azaz a vörösvérsejtjeik elnyújthatósága nagyobb mértékűnek bizonyult. Ezt a megfigyelést más munkacsoportok adatai is megerősítik.<sup>342</sup>



42. ábra

CD outbred patkány (n=12) (A,B) és beagle kutya (n=12) (C,D) vérviszkozitás [mPas] értékei a sebesség-gradiens [s<sup>-1</sup>] függvényében (A,C), valamint a vérviszkozitás/haematocrit [mPas<sup>-1</sup>] (B,D)  $10$ ,  $90$  és  $200\text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért értékei a haematocrit (Htc) függvényében a Htc-eloszlás quadransai szerinti bontásban ábrázolva.

CD patkány *Quadrans I* Htc =  $24,09 \pm 3,86\%$ ; *Quadrans II* Htc =  $40,03 \pm 3,02\%$ ;

*Quadrans III* Htc =  $49,32 \pm 2,72\%$ ; *Quadrans IV* Htc =  $59,36 \pm 3,29\%$ .

Beagle kutya *Quadrans I* Htc =  $24,77 \pm 2,29\%$ ; *Quadrans II* Htc =  $39,72 \pm 2,95\%$ ;

*Quadrans III* Htc =  $47,99 \pm 2,91\%$ ; *Quadrans IV* Htc =  $60,59 \pm 4,6\%$ .

átlag  $\pm$  S.D., \*  $p<0,05$  vs. *Quadrans I* (QI), #  $p<0,05$  vs. beagle kutya

A Myrenne készülék az aggregációs folyamat 5. és 10. másodpercében mért fényáteresztőképességből számolja ki az aggregációs index értékeket. Ez a tény magyarázhatja azt, hogy ha az aggregációs folyamat gyors, akkor ezek az index értékek már nem tükrözik meggyőzően az adott faj vörösvérsejtjeinek aggregációs készségét, hiszen a mért időpont(ok)ban a folyamat nagy része már le is zajlott. A meghatározott időpontban történő aggregációs mérésekkel szemben a folyamat kinetikáját is követő és elemző módszerek, mint a LORCA készülékkel használható syllectometria bővebb információval szolgálhat egy adott faj vörösvérsejt aggregációról. Az előző vizsgálat után néhány évvel beszerzett rotációs ektacytometer erre lehetőséget adott.

Összehasonlító haemorheologiai méréseket különböző mérőmódszerekkel, számos tanulmányban végeztünk. A 43-49. számú ábrák és a VI-IX. számú táblázatok több közleményünkben származó haematologiai paramétereket, vörösvérsejt deformabilitás adatokat (hagyományos és ozmotikus gradiens ektacytometria, membránstabilitás), valamint fénytranszmissziós és syllectometriás módszerekkel mért vörösvérsejt aggregációs értékeket foglalják össze leíró jelleggel különböző kísérleti/laboratóriumi állatfajok (egér, patkány, kutya, sertés) és ember vonatkozásában.

**VI. táblázat:** Vörösvérsejtszám (Vvs [ $10^6/\mu\text{l}$ ]), haematocrit (Htc [%]), haemoglobin koncentráció (Hgb [g/dl]), átlagos corpuscularis térfogat (MCV [fl]), átlagos corpuscularis haemoglobin tartalom (MCH [pg]) és átlagos corpuscularis haemoglobin koncentráció (MCHC [g/dl]) hím CD outbred patkányokban ( $n=9$ ,  $371,9 \pm 28,3$  g), hím és nőstény beagle kutyákban ( $n=6$ ,  $11,2 \pm 1$  kg) és nőstény Hungahib sertésekben ( $n=15$ ,  $18,2 \pm 2,7$  kg).

Paraméter	patkány	kutya	sertés	ember
Vvs [ $10^6/\mu\text{l}$ ]	$7,13 \pm 0,53$ *#	$6,9 \pm 0,35$ *#	$5,84 \pm 0,65$ *	$4,99 \pm 0,68$
Htc [%]	$48,49 \pm 2,11$ #	$52,57 \pm 3,64$ *#	$37,86 \pm 4,1$ *	$47,38 \pm 7,63$
Hgb [g/dl]	$12,96 \pm 0,37$ #	$13,69 \pm 0,12$ #	$9,12 \pm 0,64$ *	$12,51 \pm 1,27$
MCV [fl]	$68,22 \pm 5,22$ * <sup>+</sup>	$76,05 \pm 1,69$ *#	$65,08 \pm 6,55$ *	$94,63 \pm 6,98$
MCH [pg]	$18,23 \pm 1,22$ *#	$19,82 \pm 1,39$ *#	$15,73 \pm 1,47$ *	$24,88 \pm 1,78$
MCHC [g/dl]	$26,78 \pm 1,14$ #	$26,05 \pm 1,81$ #	$24,26 \pm 2,01$ *	$26,39 \pm 2,65$

átlag  $\pm$  S.D., \* $p < 0,05$  vs. ember; # $p < 0,05$  vs. sertés; + $p < 0,05$  vs. kutya

(Németh N, Kiss F, Misztli-Blasius K, Scand J Clin Lab Invest 2015;75:213-222.)

Egy másik tanulmányban inbred egerek (12 nőstény, C57BL/b,  $22,09 \pm 1,3$  g) vérmintáit is vizsgálhattuk, amelynek eredményei az alábbiak voltak: Vvs=  $6,84 \pm 0,48$   $10^6/\mu\text{l}$ , Htc=  $41,27 \pm 2,13\%$ , Hgb=  $10,11 \pm 1,61$  g/dl, MCV=  $55,57 \pm 1,58$  fl, MCH=  $14,57 \pm 0,48$  pg, MCHC=  $25,96 \pm 0,87$  g/dl,  $EI_{\max} = 0,587 \pm 0,03$ ,  $SS_{1/2} = 2,17 \pm 0,74$  Pa, 30 Pa nyírófeszültség mellett végzett osmoscan mérések során az  $EI_{\min} = 0,09 \pm 0,019$ ,  $EI_{\max} = 0,519 \pm 0,016$ ,  $EI_{\text{hyper}} = 0,26 \pm 0,008$ ,  $O_{\min} = 167,5 \pm 1,7$  mOsm/kg,  $O(EI_{\max}) = 349,6 \pm 44,8$  mOsm/kg,  $O_{\text{hyper}} = 484,8 \pm 8,1$  mOsm/kg, Area=  $132,2 \pm 14,7$ . (Németh N, Kiss F, Klárik Z, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2014;57:1-8.)

**VII. táblázat:** 1, 2, 3, 5, 10, 20 és 30 Pa nyírófeszültség mellett mért ozmotikus gradiens ektacytometriás paraméterek him CD outbred patkányokban (n=9, 371,9±28,3 g), him és nőtény beagle kutyákban (n=6, 11,2±1 kg) és nőtény Hungahib sertésekben (n=15, 18,2±2,7 kg). A mérésekhez leggyakrabban alkalmazott nyírófeszültség értékek alkalmazásával (20 és 30 Pa) kapott adatokat a szürke háttérű cellák tartalmazzák.

Paraméter	Faj	Alkalmazott nyírófeszültség						
		1 Pa	2 Pa	3 Pa	5 Pa	10 Pa	20 Pa	30 Pa
EI min	patkány	-0,061 ± 0,08	0,022 ± 0,03	0,051 ± 0,02	0,070 ± 0,01 *	0,102 ± 0,004	0,125 ± 0,007	0,128 ± 0,01
	kutya	-0,162 ± 0,05	-0,036 ± 0,09	-0,039 ± 0,08	0,043 ± 0,003 *#	0,076 ± 0,009 #	0,102 ± 0,007	0,106 ± 0,008 #
	sertés	-0,003 ± 0,09	0,005 ± 0,06	0,041 ± 0,06	0,085 ± 0,03 *	0,114 ± 0,01	0,145 ± 0,02	0,141 ± 0,02
	ember	0,013 ± 0,06	0,021 ± 0,06	0,056 ± 0,01	0,085 ± 0,01 *	0,125 ± 0,02	0,124 ± 0,01	0,137 ± 0,01
EI max	patkány	0,309 ± 0,01 *#	0,362 ± 0,01 *#	0,397 ± 0,01 *	0,446 ± 0,009 *	0,477 ± 0,01	0,508 ± 0,01	0,497 ± 0,02
	kutya	0,253 ± 0,02 *	0,322 ± 0,02 *	0,343 ± 0,01 *	0,401 ± 0,01 *	0,438 ± 0,01 #	0,484 ± 0,02	0,482 ± 0,01 #
	sertés	0,262 ± 0,04 *	0,323 ± 0,02 *	0,358 ± 0,01 *	0,404 ± 0,01 *	0,443 ± 0,009 #	0,468 ± 0,008	0,472 ± 0,03
	ember	0,273 ± 0,01 *	0,314 ± 0,01 *	0,370 ± 0,01 *	0,430 ± 0,01 *	0,472 ± 0,02	0,513 ± 0,01	0,515 ± 0,01
EI hyper	patkány	0,154 ± 0,008 *	0,181 ± 0,01 *	0,199 ± 0,005 *	0,223 ± 0,004	0,251 ± 0,03	0,254 ± 0,005	0,248 ± 0,01
	kutya	0,126 ± 0,01 *	0,161 ± 0,01 *	0,171 ± 0,006 *	0,201 ± 0,006	0,219 ± 0,007 #	0,242 ± 0,008 #	0,241 ± 0,005 #
	sertés	0,131 ± 0,02 *	0,162 ± 0,01 *	0,179 ± 0,008 *	0,202 ± 0,007	0,221 ± 0,004 #	0,234 ± 0,004 #	0,239 ± 0,007 #
	ember	0,136 ± 0,008 *	0,157 ± 0,007 *	0,184 ± 0,007 *	0,214 ± 0,007	0,236 ± 0,01	0,256 ± 0,008	0,258 ± 0,007
O min [mOsm/kg]	patkány	140 ± 12,1	136 ± 8	136,5 ± 10,5	147,8 ± 4,9	152,7 ± 7,1	157,8 ± 3,1	156,2 ± 6,3
	kutya	125,6 ± 16,6	113,6 ± 11,9	110,1 ± 7,6 #	117,5 ± 9,8 #	124,1 ± 7,7 #	127,1 ± 14,2	129,3 ± 11,2
	sertés	181,7 ± 16,2 #	188,5 ± 19,6 #	194,4 ± 14,5 #	195,1 ± 19 #	203,1 ± 8,8 #	205,3 ± 11,4 #	204,5 ± 14,3 #
	ember	125,2 ± 10,8	124,2 ± 9	132,9 ± 9,2	140,1 ± 7,7	146,6 ± 5,5	149 ± 5,4	153,2 ± 5
O (EI max) [mOsm/kg]	patkány	235,2 ± 19,9 *	261,6 ± 19,8	274 ± 23,7	286,7 ± 6,5	303,8 ± 15,9	302 ± 17,9	307,3 ± 28,6
	kutya	198,3 ± 12,3 *	220 ± 9,6 *	226,4 ± 15,7 *	231,6 ± 26,7	244,5 ± 18,7	247 ± 11,2	265,3 ± 29,6
	sertés	299 ± 27,7 *#	333,9 ± 25,5 *#	344,5 ± 19,4 *#	361,7 ± 31,1 #	380,7 ± 24,8 #	401,2 ± 28,9 #	409,7 ± 29,3 #
	ember	200,2 ± 16,1 *	226,7 ± 16,3 *	242,6 ± 15,1 *	255,7 ± 14,4 *	270,7 ± 14,6	298,1 ± 13,8	305,2 ± 15,9
O hyper [mOsm/kg]	patkány	366,6 ± 45,6 * #	419,5 ± 18,2	432,4 ± 6,4	437,1 ± 9	444,7 ± 6	453,6 ± 6,3	461,4 ± 8,7
	kutya	226,5 ± 30,1 *	394,5 ± 20,8	416,3 ± 11,9	411 ± 17,2	431,5 ± 14,9	436,3 ± 7,6	444,5 ± 13,3
	sertés	417,7 ± 88,7 *#	518,8 ± 33,1 #	543,5 ± 24 #	552,4 ± 17,1 #	556,5 ± 20,5 #	563,7 ± 13,6 #	574 ± 12,9 #
	ember	229,9 ± 66,7 *	405,6 ± 40,3	428,9 ± 9,7	438,1 ± 9,7	453,2 ± 13,9	450 ± 12,3	455,4 ± 14,3
Area	patkány	49,98 ± 14,14 *	74,9 ± 5,21 *	88,53 ± 5,76 *	99,41 ± 5,24 *	112,28 ± 8,19 *	126,7 ± 6,68	127,15 ± 8,88
	kutya	21,3 ± 9,75 *#	69,4 ± 5,18 *	77,85 ± 5,41 *	94,9 ± 2,85 *	109,36 ± 3,36 *	123,95 ± 9,35	126,91 ± 6,18
	sertés	45,86 ± 15,28 *	55,73 ± 6,54 *#	65,13 ± 7,9 *#	76,38 ± 7,95 *#	85,94 ± 6,98 #	91,88 ± 7,44 #	99,39 ± 12,94 #
	ember	50,7 ± 11,1 *	68,47 ± 6,94 *	85,14 ± 5,22 *	103,49 ± 4,9 *	121,11 ± 5,18 *	133,12 ± 6,94	137,82 ± 5,93

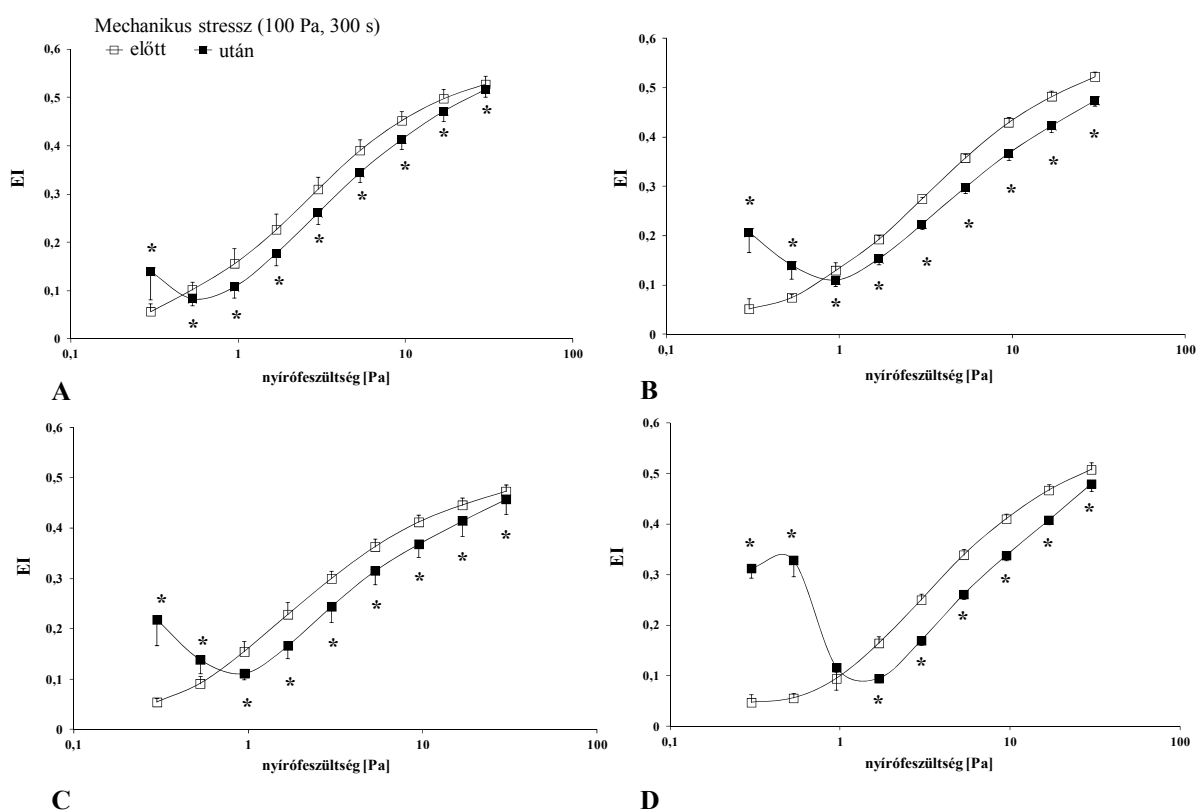
átlag± S.D., \*p<0,05 vs. 30 Pa; #p<0,05 vs. ember

(Németh N, Kiss F, Miszti-Blasius K, Scand J Clin Lab Invest 2015;75:213-222.)

**VIII. táblázat:** Hagyományos ektacytometriával meghatározott deformabilitási paraméterek –elongációs index (EI) 3 Pa-nál, maximális elongációs index ( $EI_{\max}$ ) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség érték ( $SS_{1/2}$  [Pa]), ezek egymáshoz viszonyított aránya– valamint membránstabilitás mérés során az alkalmazott mechanikus stressz utáni (U) és előtti (E) deformabilitási értékek aránya hím CD outbred patkányokban ( $n=8$ ,  $408 \pm 59,7$  g), nőstény beagle kutyákban ( $n=7$ ,  $12,6 \pm 1,3$  kg), nőstény Hungahib sertésekben ( $n=9$ ,  $16,2 \pm 1,9$  kg) és férfi és női emberi vérmintákban ( $n=15$ ).

Méréstechnika	Paraméter	patkány	kutya	sertés	ember
Hagyományos ektacytometria	EI 3 Pa-nál	$0,346 \pm 0,025 \#$	$0,218 \pm 0,019 \#$	$0,331 \pm 0,014 \#$	$0,319 \pm 0,019$
	$EI_{\max}$	$0,541 \pm 0,017 \#$	$0,51 \pm 0,017 \#$	$0,47 \pm 0,021 \#$	$0,538 \pm 0,026$
	$SS_{1/2}$ [Pa]	$2 \pm 0,39$	$4,35 \pm 0,6 \#$	$1,81 \pm 0,25 \#$	$2,23 \pm 0,47$
	$EI_{\max}/SS_{1/2}$ [ $Pa^{-1}$ ]	$0,28 \pm 0,05 \#$	$0,119 \pm 0,018 \#$	$0,263 \pm 0,029$	$0,254 \pm 0,068$
Membránstabilitás (100 Pa, 300 s mechanikus stressz utáni-U és előtti-E deformabilitási eredmények)	EI 3 Pa-nál U/E arány	$0,8 \pm 0,07 \#$	$0,79 \pm 0,11 \#$	$0,89 \pm 0,06 \#$	$0,71 \pm 0,063$
	$EI_{\max}$ U/E arány	$0,9 \pm 0,05$	$0,85 \pm 0,08 \#$	$0,98 \pm 0,04$	$0,92 \pm 0,11$
	$SS_{1/2}$ U/E arány	$1,89 \pm 0,29 \#$	$1,81 \pm 0,52 \#$	$1,43 \pm 0,21 \#$	$3,16 \pm 1,33$
	$EI_{\max}/SS_{1/2}$ U/E arány	$0,49 \pm 0,09 \#$	$0,49 \pm 0,11 \#$	$0,7 \pm 0,1 \#$	$0,33 \pm 0,11$

átlag  $\pm$  S.D.,  $\#p < 0,05$  vs. ember (Kiss F, Tóth E, Miszti-Blasius K, Németh N, Clin Hemorheol Microcirc 2016;62:215-227.)

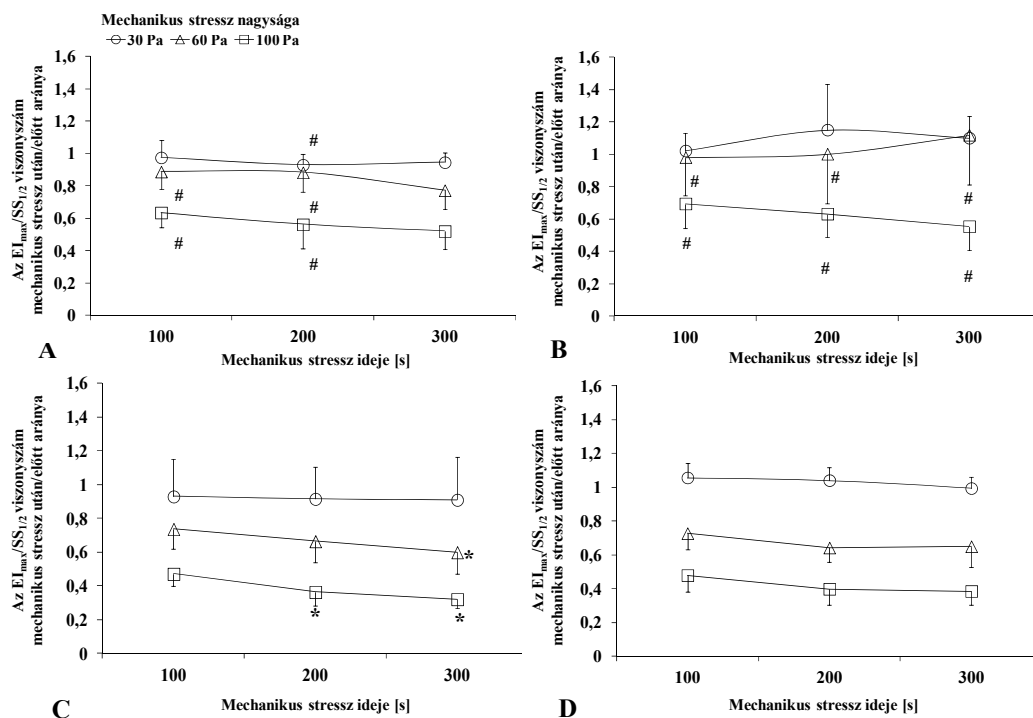


**43. ábra**

Sprague-Dawley outbred patkány ( $n=6$ , nőstény) (A), beagle kutya ( $n=8$ , hím) (B), Hungahib sertés ( $n=11$ , nőstény) (C) és ember ( $n=7$ , nő) (D) vérmináinak elongációs index (EI) értékei a nyírófeszültség [Pa] függvényében a mintán alkalmazott mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) előtt és után.

átlag  $\pm$  S.D., \*  $p < 0,05$  vs. mechanikus stressz előtti értékek

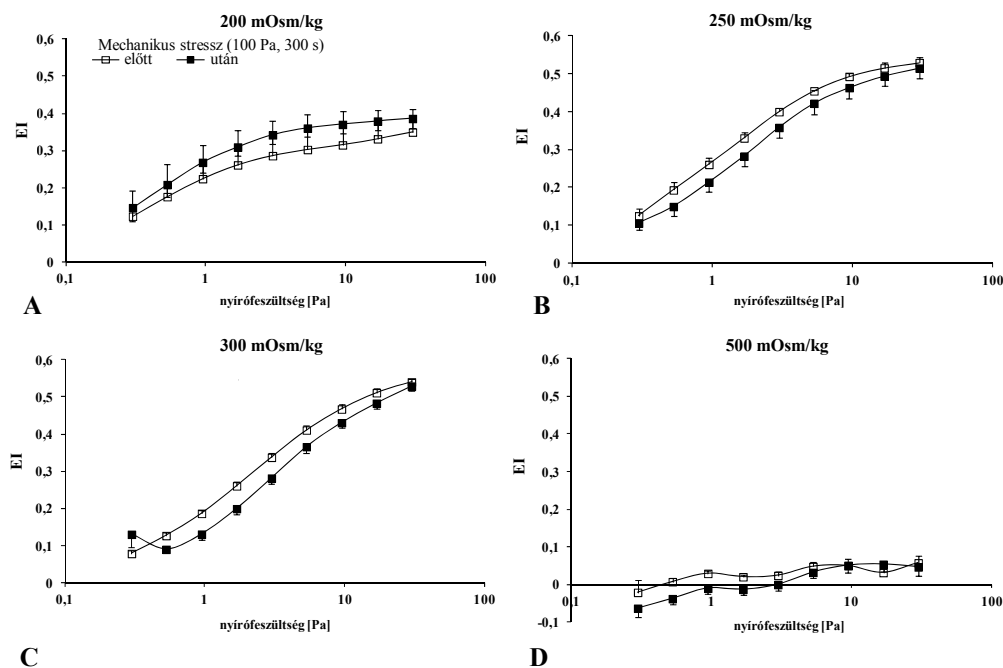
(Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016 – ePub, doi: 10.3233/CH-152031)



44. ábra

A vörösvérsejt deformabilitást jellemző maximális elongációs index ( $EI_{\max}$ ) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$  [Pa]) viszonyszámának relatív értékei a vérmintákon alkalmazott különböző nagyságú mechanikus stressz (30, 60 és 100 Pa) előtt és után kapott értékek összehasonlításával az mechanikus stressz ideje függvényében Sprague-Dawley patkány ( $n=6$ , nőstény) (A), beagle kutya ( $n=8$ , hím) (B), Hungahib sertés ( $n=11$ , nőstény) (C) és emberi ( $n=7$ , nő) (D) vérmintákon.

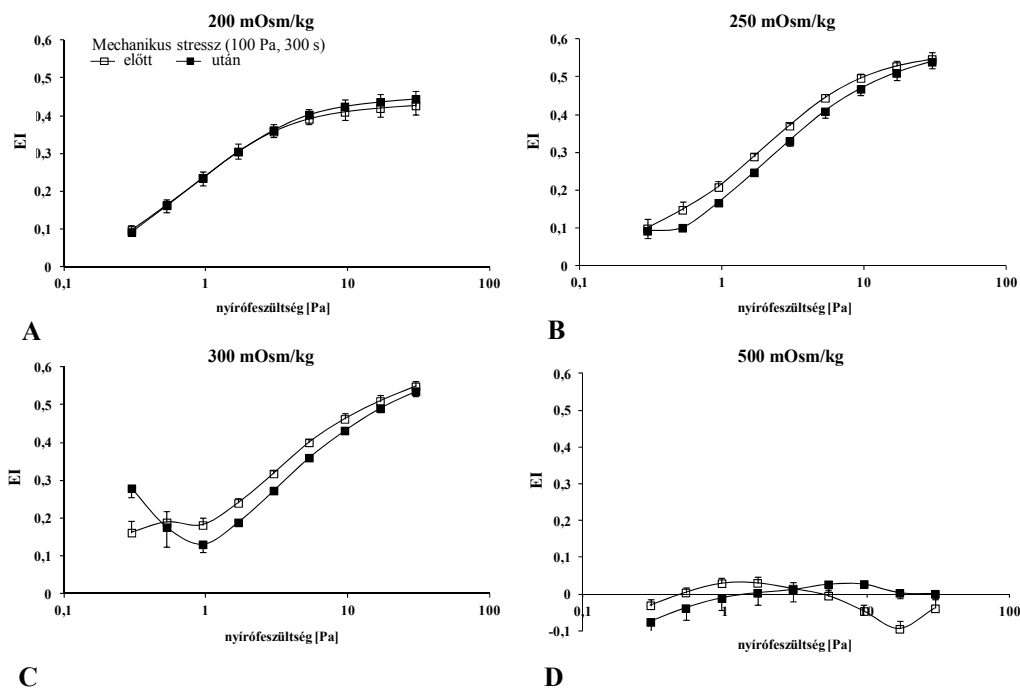
átlag $\pm$ S.D., \*  $p < 0,05$  vs. 100 s; #  $p < 0,05$  vs. ember, azonos nagyságú mechanikus stressznél  
(Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016 – ePub, doi: 10.3233/CH-152031)



45. ábra

Sprague-Dawley patkány ( $n=6$ , nőstény) vérminták elongációs index (EI) értékei a nyírófeszültség [Pa] függvényében a mintán alkalmazott mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) előtt és után 200 mOsm/kg (A), 250 mOsm/kg (B), 300 mOsmol/kg (C) és 500 mOsm/kg (D) ozmolalitású szuszpenziós közegben mérve. Átlag $\pm$ S.D.

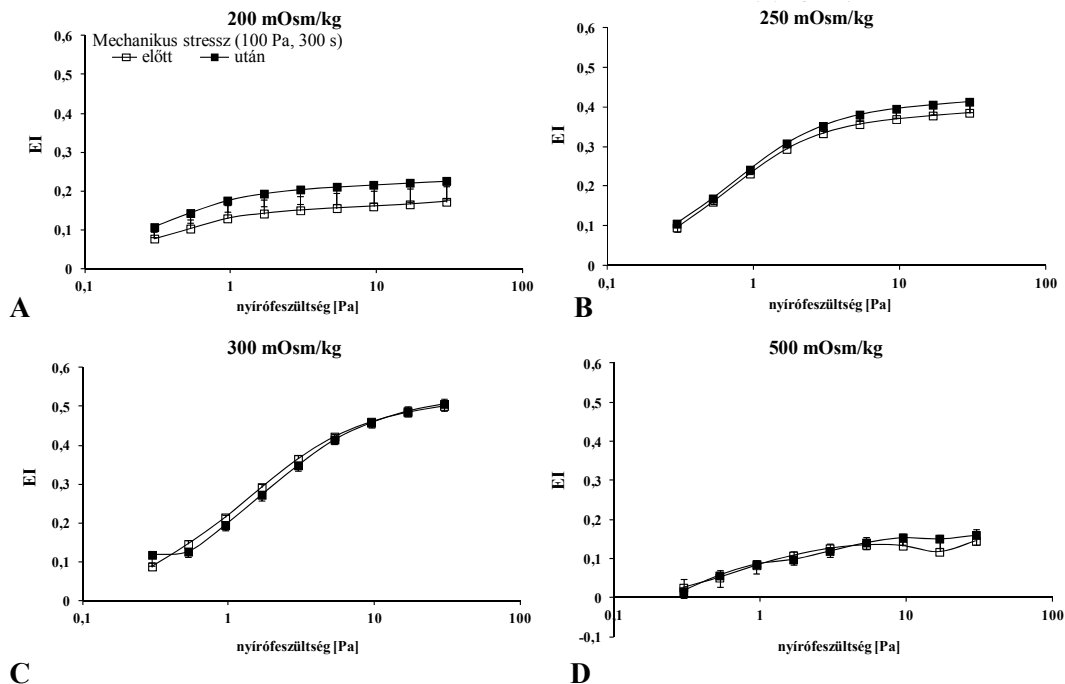
(Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016 – ePub, doi: 10.3233/CH-152031)



46. ábra

Beagle kutya (n=8, hím) vérminták elongációs index (EI) értékei a nyírófeszültség [Pa] függvényében a mintán alkalmazott mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) előtt és után 200 mOsm/kg (A), 250 mOsm/kg (B), 300 mOsm/kg (C) és 500 mOsm/kg (D) ozmolalitású szuszpenziós közegben mérve. Átlag±S.D.

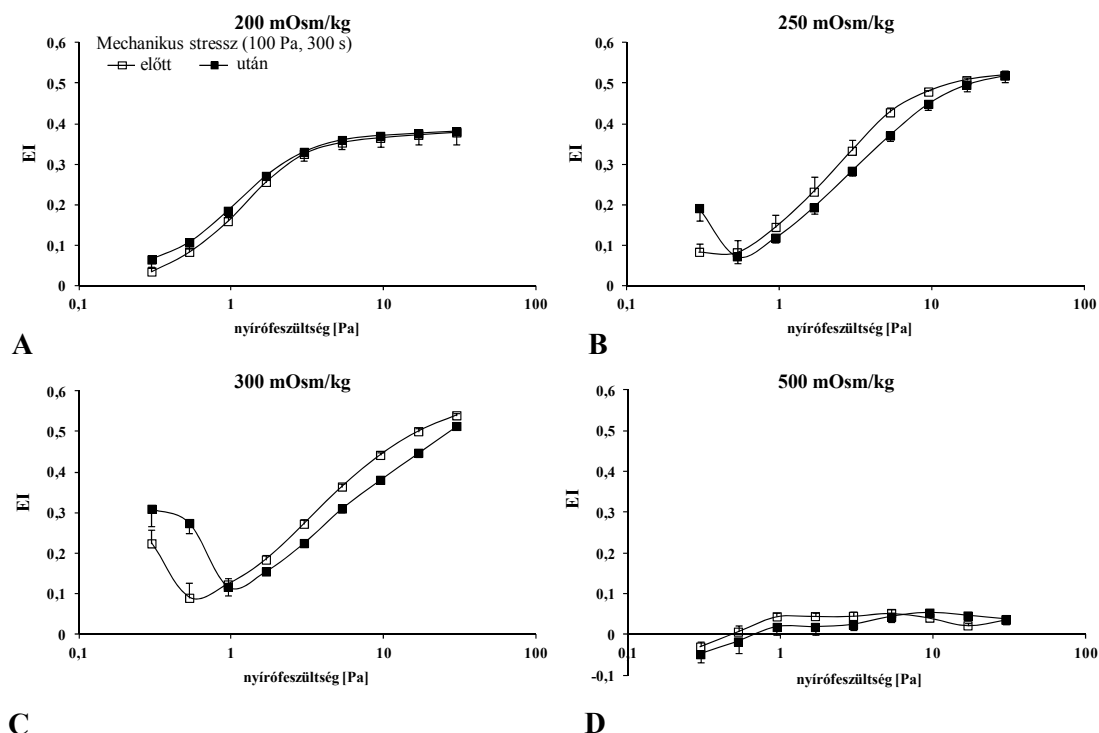
(Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016 – ePub, doi: 10.3233/CH-152031)



47. ábra

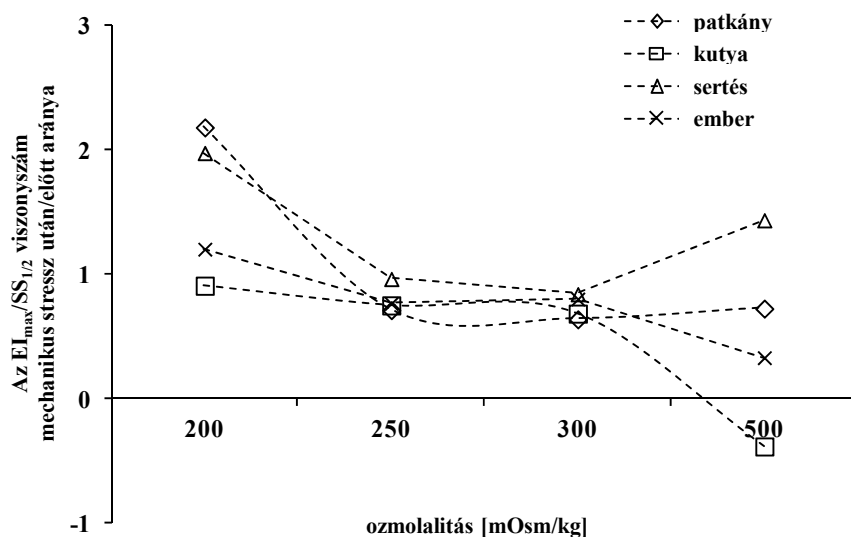
Hungahib sertés (n=11, nőstény) vérminták elongációs index (EI) értékei a nyírófeszültség [Pa] függvényében a mintán alkalmazott mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) előtt és után 200 mOsm/kg (A), 250 mOsm/kg (B), 300 mOsm/kg (C) és 500 mOsm/kg (D) ozmolalitású szuszpenziós közegben mérve. Átlag±S.D.

(Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016 – ePub, doi: 10.3233/CH-152031)



48. ábra

Humán vérminták (n=7, nő) elongációs index (EI) értékei a nyírófeszültség [Pa] függvényében a mintán alkalmazott mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) előtt és után 200 mOsm/kg (A), 250 mOsm/kg (B), 300 mOsm/kg (C) és 500 mOsm/kg (D) ozmolalitású szuszpenziós közegben mérve. Átlag±S.D.  
(Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016 – ePub, doi: 10.3233/CH-152031)



49. ábra

A vörösvérsejt deformabilitást jellemző maximális elongációs index (EI<sub>max</sub>) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség (SS<sub>1/2</sub> [Pa]) viszonyszámának relatív értékei a vérmintákon alkalmazott mechanikus stressz (100 Pa, 300 s) előtt és után kapott értékek összehasonlításával az ozmolalitás függvényében Sprague-Dawley patkány (n=6, nőstény), beagle kutya (n=8, hím), Hungarhib sertés (n=11, nőstény) és emberi (n=7, nő) vérmintákban.  
(Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016 – ePub, doi: 10.3233/CH-152031)



**IX. táblázat:** A Myrenne MA-1 erythrocyta aggregométerrel mért vörösvérsejt index paraméterek (M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s) és a LoRRca készülékkel meghatározott aggregációs paraméterek, mint az amplitudo (amp), az aggregációs index (AI) és az aggregációs félidő ( $t_{1/2}$  [s]) nőstény C57BL/b inbred egerekben ( $n=16$ ,  $20,8 \pm 1,3$  g), CD outbred patkányokban ( $n=15$ ,  $287,5 \pm 14,9$  g), beagle kutyákban ( $n=15$ ,  $11,3 \pm 1,7$  kg) és Hungahib sertésekben ( $n=23$ ,  $17,8 \pm 2,4$  kg).

Paraméter	egér	patkány	kutya	sertés
M 5s	$3,19 \pm 1,72^{* \#}$	$1,41 \pm 0,71^{+ \#}$	$3,47 \pm 1,85^{\#}$	$2,66 \pm 1,15$
M1 5s	$2,67 \pm 1,45^{* + \#}$	$2,13 \pm 0,87^{+ \#}$	$6,64 \pm 2,1$	$6,29 \pm 2,73$
M 10s	$7,89 \pm 4,21^{* + \#}$	$3,64 \pm 1,79^{+ \#}$	$10,82 \pm 5,9^{\#}$	$9,57 \pm 3,14$
M1 10s	$6,55 \pm 3,44^{+ \#}$	$5,51 \pm 2,25^{+ \#}$	$15,95 \pm 5,93$	$16,77 \pm 4$
amp [au]	$8,67 \pm 2,86^{+ \#}$	$7,04 \pm 2,72^{+ \#}$	$23,51 \pm 3,54^{\#}$	$19,22 \pm 3,27$
AI [%]	$11,63 \pm 5,16^{* + \#}$	$69,92 \pm 11,64^{+ \#}$	$46,28 \pm 9,71^{\#}$	$63,66 \pm 6,58$
$t_{1/2}$ [s]	$34,89 \pm 8,47^{\#\#}$	$0,4 \pm 0,29^{\#\#}$	$5,1 \pm 1,99^{\#\#}$	$2,17 \pm 0,76^{\#\#}$

átlag  $\pm$  S.D., \* $p < 0,05$  vs. patkány; + $p < 0,05$  vs. kutya; # $p < 0,05$  vs. sertés; ## $p < 0,05$  vs. mindegyik

(Kiss F, Klárik Z, Tóth E, Pető K, Mikó I, Németh N, J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2015;99:1074-1083.)

### Összegzés, konklúzió:

A vörösvérsejt deformabilitás mérések adatainak összevetésével a vizsgált fajok között az alábbi összehasonlítás adható meg:  $EI_{\max}$  sertés < patkány < ember < kutya < egér,  $SS_{1/2}$  sertés < egér ~ patkány < ember < kutya. A vörösvérsejt membránstabilitásban jelentős faji különbség mutatkozik az alkalmazott mechanikus stressz nagyságától és expozíciós idejétől függően. Kimutattuk, hogy a mechanikus stressz a közeg ozmolalitásától függően javítja (200 mOsm/kg-nál) vagy rontja (250-300 mOsm/kg-nál) a deformabilitást. Ennek mértéke szintén faji különbségeket mutat: patkány és sertés vérmintákban kifejezetten javult a deformabilitás alacsony ozmolalitású közegben mérve.

A vizsgált speciesek ozmotikus gradiens ektacytometriás (osmoscan) paramétereinek összehasonlításában a legszembetűnőbb különbséget a sertésvérminták elongációs index – ozmolalitás görbéinek jobbra tolódása, azaz magasabb ozmolalitás tartományban való elhelyezkedése jelentette. A maximális elongációs indexhez tartozó ozmolalitás értéke jóval 300 mOsm/kg felett volt (20 Pa-nál mérve:  $401,2 \pm 28,9$ , 30 Pa-nál  $409,7 \pm 29,3$  mOsm/kg). Inbred egereknél is 300 mOsm/kg feletti értékeket mérhettünk a legmagasabb elongációs indexnél. Ugyanakkor az egerek elongációs index értékei magasabbak voltak, mint a sertéseknél, de mindkettőnek jóval magasabb volt az O ( $EI_{\max}$ ) értéke patkánnyal, kutyával vagy emberrel való összehasonlításban.

A vörösvérsejt aggregatio tekintetében a dinamikus paramétereket is figyelembe véve elmondható, hogy a patkányban a leggyorsabb és legnagyobb mértékű az erythrocyta aggregatio. Egérben jóval lassabban meg végbe a folyamat, míg a kutya, a sertés a vizsgált paraméterek nagyságrendje tekintetében az emberrel komparabilis.

A fejezet alapjául szolgáló közlemények: (1) Németh N, Alexy T, Furka A, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, Mikó I, Biorheology 2009;46:155-165.; (2) Németh N, Magyar Állatorvosok Lapja 2011;133:612-619.; (3) Németh N, Kiss F, Klárik Z., Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2014;57:1-8.; (4) Németh N, Kiss F, Miszt-Biasius K, Scand J Clin Lab Invest 2015;75:213-222.; (5) Kiss F, Klárik Z, Tóth E, Pető K, Mikó I, Németh N, J Anim Physiol Anim Nutr (Berl) 2015;99:1074-1083.; (6) Kiss F, Tóth E, Miszt-Biasius K, Németh N, Clin Hemorheol Microcirc 2016;62:215-227.; (7) Németh N, Sógor V, Kiss F, Ülker P, Clin Hemorheol Microcirc 2016 – ePub, doi: 10.3233/CH-152031.

## 6.2. Laboratóriumi állatfajok haemorheologiai nemi különbségei

### 6.2.1. Alapkülönbségek

#### *Háttér, célkitűzés:*

A klinikumban az utóbbi években egyre több irodalmi adat érhető el a nemi különbségek haemorheologiai jellemzőiről. Férfiaknak magasabb a vér és a plazma viszkozitása, a haematocritja és a fibrinogén koncentrációja a nőkéhez képest, akiknek vörösvérsejt deformálhatósága nagyobb, aggregációs készsége kisebb mértékű. Ez egészségeseknél nem jelenthet „jobb” vagy „rosszabb” összehasonlítást, hiszen a teljes keringési rendszer felépítése, a hemodinamikai sajátosságok, a metabolikus tényezők sok más élettani folyamat mellett összefüggésben vannak a rheologiai faktorokkal. Ugyanakkor a cardio-cerebro-vascularis betegségek rizikófaktorainak tekintetében haemorheologiai nemi és életkorbeli különbségek mutatkoznak.<sup>11,31,41,51,106,107,115,158,166,171,183,184,221,326,352</sup> A klinikai vizsgálatok tervezésénél, de az experimentális orvostudományban a kísérleti csoportok nemi összetételének meghatározásánál is ezt a kérdést figyelembe kell venni. Állatkísérletes vonatkozásban alig ismert ezirányú adat, rendszerezett összehasonlító tanulmányt nem találtunk.

Feltételeztük, hogy a különböző laboratóriumi állatfajokban a faji sajátosságok mellett a haemorheologiai nemi különbségek is jelentősek lehetnek, befolyásolva a kísérleti csoportok nemi összetételének kialakítását és az eredmények értékelhetőségét. Célul tűztük ki egy „laboratórium-specifikus”, reprezentatív adatbázis elkészítését a nemi különbségek haemorheologiai elemzésére, a kutatólaboratóriumunkban 2002-2008 között mért kontroll adatok és kiegészítő összehasonlító vizsgálatok alapján.

#### *Eredmények:*

A rheologiai szempontból fontos haematologiai paraméterek közül a fehérvérsejtszám CD patkányok esetén szignifikáns nemi különbséget adott, a hímeknél magasabb értékeket mutatva. Beagle kutyáknál nem volt nyilvánvaló különbség. A thrombocytá szám mindkét vizsgált állatfajban a nőstény állatokban mutatkozott magasabbnak. A vörösvérsejtszám mindkét fajnál a hímeknél volt nagyobb, emelkedett haematocrit értékek mellett. Az átlagos vörösvérsejt haemoglobin tartalom szignifikánsan nagyobb volt mindkét faj nőstény állataiban (X. táblázat).

A teljes vér viszkozitás  $90\text{ s}^{-1}$  sebesség-gradiensnél mért értékei patkányokban a nőstényeknél voltak magasabbak, de a vizsgált esetszámmal nem érték el a szignifikancia szintet. Beagle kutyák esetén a hímek mutattak kismértékben magasabb értékeket. A plazma viszkozitás a nőstény patkányokban volt szignifikánsan magasabb a hímekhez képest, magasabb fibrinogén koncentráció mellett. Beagle kutyáknál a plazma viszkozitás és a fibrinogén koncentráció közel hasonló volt hímekben és nőstényekben (XI. táblázat).

A vörösvérsejt deformabilitás filtrometriás méréseinél azt találtuk, hogy a kezdeti relatív filtrációs sebesség (IRFR) és a relatív sejt-tranzitidő (RCTT) értékei mindkét faj hím és nőstény egyedeiben közel estek egymáshoz. Kutyáknál lehetett a hímeknél kismértékben alacsonyabb IRFR-t és magasabb RCTT-t megfigyelni, de szignifikáns különbség nem mutatkozott a vizsgált esetszámban (XI. táblázat).

**X. táblázat:** Hím és nőstény CD patkányok és beagle kutyák haematologiai paraméterei

Paraméter	Faj	Hímek	Nőstények	p érték
Fvs [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]	CD patkány	6,52 $\pm$ 2,78 6,2 (4,4/8,45)	5,26 $\pm$ 2,3 5,31 (3,37/6,93)	0,003
	Beagle kutya	10,59 $\pm$ 2,39 10,2 (8,9/11,92)	11,05 $\pm$ 2,31 11,8 (9,05/12,9)	n.s.
Thr [ $\times 10^3/\mu\text{l}$ ]	CD patkány	739,6 $\pm$ 268,7 755,5 (622/886)	850,6 $\pm$ 314,1 810 (627/1087)	n.s.
	Beagle kutya	397,6 $\pm$ 148,9 389 (299/491,5)	443,8 $\pm$ 122,1 486,5 (375/521)	0,001
Vvs [ $\times 10^6/\mu\text{l}$ ]	CD patkány	7,79 $\pm$ 1,55 7,89 (7,16/8,81)	6,77 $\pm$ 1,81 7,2 (6,21/7,8)	<0,001
	Beagle kutya	6,75 $\pm$ 0,94 6,76 (6,2/7,34)	6,53 $\pm$ 0,63 6,56 (6,09/6,99)	0,015
Hgb [g/dl]	CD patkány	12,22 $\pm$ 2,25 12,3 (11,25/13,65)	11,77 $\pm$ 1,53 11,77 (10,7/12,5)	n.s.
	Beagle kutya	14,27 $\pm$ 1,81 14,35 (12,9/15,5)	14,19 $\pm$ 1,22 14 (13,3/15)	n.s.
Htc [%]	CD patkány	43,55 $\pm$ 6,67 43,8 (40,57/47,8)	41,44 $\pm$ 5,79 41,7 (38,07/44,25)	0,001
	Beagle kutya	48,48 $\pm$ 6,01 47,7 (43,97/53,07)	46,28 $\pm$ 5,6 46,4 (43,02/50,47)	0,007
MCV [fl]	CD patkány	56,61 $\pm$ 5,98 55,7 (53,55/57,95)	56,69 $\pm$ 2,69 56,3 (54,65/57,97)	n.s.
	Beagle kutya	71,01 $\pm$ 3,49 71,1 (68,3/73,35)	71,54 $\pm$ 2,36 71,4 (69,6/73,7)	n.s.
MCH [pg]	CD patkány	15,74 $\pm$ 0,96 15,7 (15,2/16,3)	16,14 $\pm$ 1,01 16,2 (15,62/16,7)	0,002
	Beagle kutya	20,97 $\pm$ 1,57 21,1 (20,15/22,2)	21,76 $\pm$ 1,08 21,75 (20,85/22,6)	<0,001
MCHC [g/dl]	CD patkány	27,94 $\pm$ 1,98 28,2 (27,2/29,2)	28,51 $\pm$ 1,71 28,7 (27,7/29,8)	n.s.
	Beagle kutya	29,54 $\pm$ 1,79 29,7 (28,7/30,6)	30,46 $\pm$ 1,21 30,65 (29,5/31,4)	<0,001

átlag  $\pm$  S.D., median (25% / 75%), patkány: hím n=106, nőstény n=43; kutya: hím n=82, nőstény n=86  
n.s. = nem szignifikáns (Student-féle t-teszt/Mann-Whitney RS teszt)

Az ektacytometeres (Rheoscan D-200 slit flow ektacytometer) vizsgálatok során azt találtunk, hogy CD patkányoknál a nőstények rendelkeztek magasabb elongációs index értékekkel. Beagle kutyák esetén a hímek mutattak magasabb értékeket, bár a különbség nem érte el a szignifikancia szintet. A különbségeket az elongációs index – nyírófeszültség görbék (50. ábra) és parametrizált összehasonlító adatai (XII. táblázat) is jól mutatják.

**XI. táblázat:** Hím és nőstény CD patkányok és beagle kutyák teljes vér viszkozitás, plazma viszkozitás, fibrinogén koncentráció értékei és filtrációs paraméterei

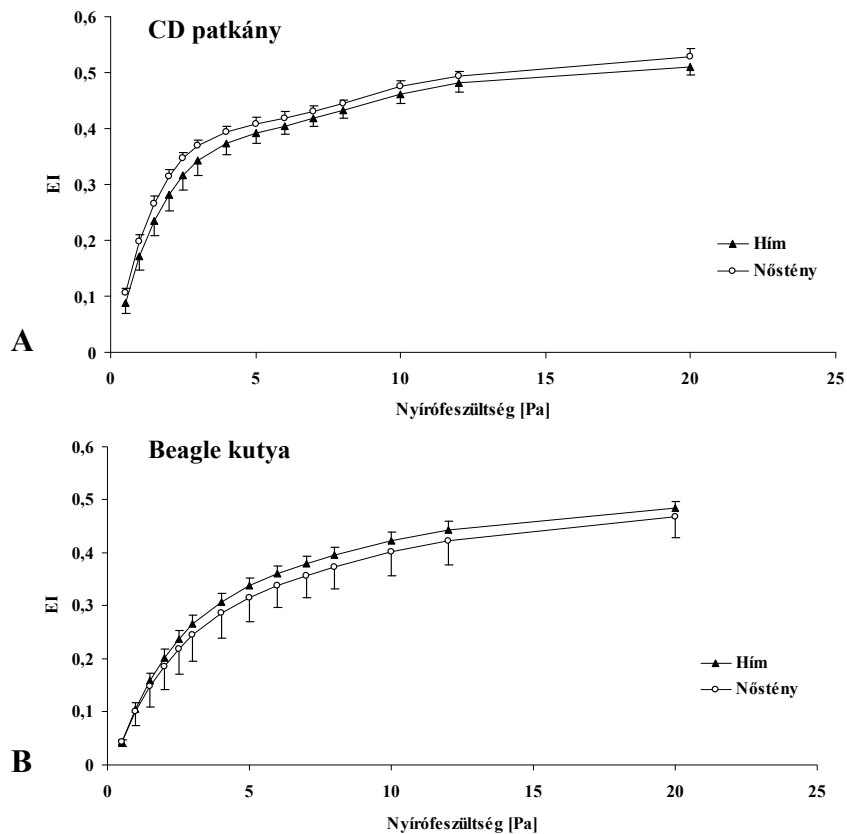
Paraméter	Faj	Hímek	Nőstények	p érték
TVV [mPas] (90 s <sup>-1</sup> )	CD patkány	6,03 ± 1,71 5,6 (4,61/6,98)	6,34 ± 0,77 6,34 (5,47/6,94)	n.s.
	Beagle kutya	4,53 ± 1,13 4,29 (3,66/5,06)	4,41 ± 1,07 4,0 (3,64/4,87)	n.s.
PV [mPas]	CD patkány	1,22 ± 0,18 1,22 (1,07/1,34)	1,49 ± 0,17 1,44 (1,35/1,52)	0,011
	Beagle kutya	1,19 ± 0,19 1,11 (1,04/1,3)	1,20 ± 0,27 1,08 (1,02/1,22)	n.s.
Fbg [g/dl]	CD patkány	1,52 ± 0,43 1,29 (1,25/1,53)	1,87 ± 0,08 1,88 (1,76/1,94)	n.s.
	Beagle kutya	2,03 ± 0,32 2,01 (1,77/2,29)	2,04 ± 0,54 1,96 (1,68/2,24)	n.s.
RCTT	CD patkány	3,71 ± 0,73 3,67 (2,78/4,02)	3,63 ± 0,54 3,66 (2,91/3,99)	n.s.
	Beagle kutya	4,62 ± 1,15 4,54 (3,82/5,15)	4,22 ± 1,31 3,97 (3,48/4,53)	n.s.
IRFR	CD patkány	0,883 ± 0,026 0,882 (0,869/0,899)	0,878 ± 0,024 0,874 (0,859/0,892)	n.s.
	Beagle kutya	0,841 ± 0,065 0,843 (0,827/0,870)	0,846 ± 0,033 0,861 (0,828/0,876)	n.s.

átlag ± S.D., median (25% / 75%), patkány: hím n=20, nőstény n=12; kutya: hím n=32, nőstény n=27  
 TVV = teljes vér viszkozitás; PV = plazma viszkozitás; Fbg = fibrinogén koncentráció, RCTT = relative cell transit time (relatív sejt-transzidő), IRFR = initial relative filtration rate (kezdeti relatív filtrációs ráta)  
 n.s. = nem szignifikáns (Student-féle t-teszt/Mann-Whitney RS teszt)

**XII. táblázat:** Hím és nőstény CD patkány és beagle kutya elongációs index (EI)-nyírófeszültség (SS) görbéinek összehasonlító paraméterei

Paraméter	Faj	Hímek	Nőstények	p érték
EI 3 Pa-nál	CD patkány	0,343 ± 0,025 0,343 (0,323/0,362)	0,357 ± 0,017 0,360 (0,342/0,371)	0,015
	Beagle kutya	0,339 ± 0,014 0,336 (0,330/0,352)	0,335 ± 0,012 0,336 (0,326/0,345)	n.s.
EI <sub>max</sub>	CD patkány	0,570 ± 0,026 0,569 (0,550/0,580)	0,566 ± 0,018 0,567 (0,555/0,580)	n.s.
	Beagle kutya	0,565 ± 0,012 0,566 (0,557/0,573)	0,564 ± 0,013 0,566 (0,559/0,573)	n.s.
SS <sub>1/2</sub> [Pa]	CD patkány	2,3 ± 0,6 2,06 (1,89/2,49)	2,02 ± 0,36 1,9 (1,75/2,34)	n.s.
	Beagle kutya	2,18 ± 0,28 2,2 (2,01/2,37)	2,25 ± 0,24 2,27 (2,06/2,43)	n.s.

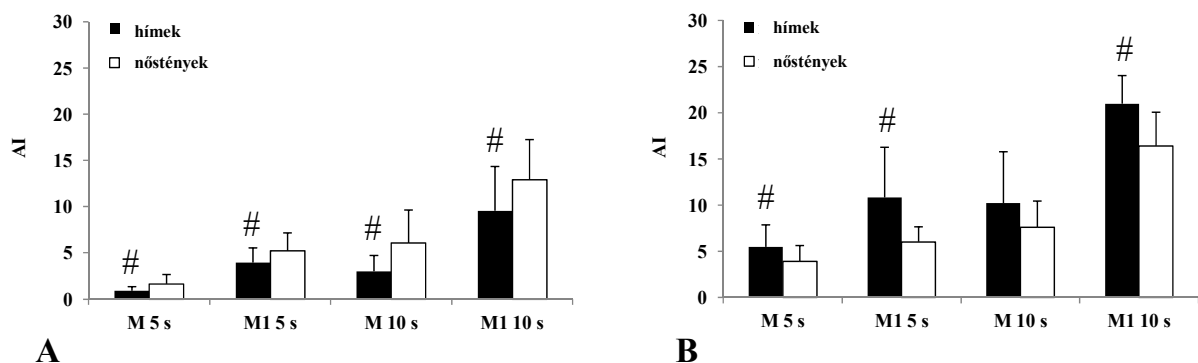
átlag ± S.D., median (25% / 75%), patkány: hím n=15, nőstény n=18; kutya: hím n=24, nőstény n=22  
 EI = elongációs index; EI<sub>max</sub> = maximális EI; SS<sub>1/2</sub> = az EI<sub>max</sub> feléhez tartozó nyírófeszültség érték



50. ábra

Az elongációs index (EI) értékek a nyírófeszültség (SS [Pa]) függvényében hím és nőstény CD patkányokban (A) és beagle kutyákban (B).  
 átlag  $\pm$  S.D.; patkány: 15 hím, 18 nőstény; kutya: 24 hím, 22 nőstény

A vörösvérsejt aggregatio tekintetében a helyzet fordított volt: patkányoknál a nőstényekben mértünk magasabb aggregációs index értékeket, míg beagle kutyáknál a hímekben voltak magasabb az értékek. A nemi különbségek beagle kutyák 10 secundos M index értékei kivételével szignifikánsak voltak (51. ábra).



51. ábra

Hím és nőstény CD patkányok (A) és beagle kutyák (B) vörösvérsejt aggregációs index (AI) értékei  
 átlag  $\pm$  S.D., patkány: 38 hím, 18 nőstény; kutya: 18 hím, 42 nőstény; #  $p < 0,05$  vs. nőstény

*Konklúzió:*

A laboratóriumi állatfajok nemi haemorheológiai különbségei jelentősek lehetnek, a humán adatokkal nem korrelálnak. A kísérletek tervezésekor és az adatok értékelésekor mindezek figyelembe vétele fontos, hiszen a talált nemi haemorheológiai különbségek megközelíthetők, vagy akár el is fedhetik az adott kísérletekben vizsgált változások valódi mértékét.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Németh N, Kiss F, Furka I, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2010;45:263-272.

**6.2.2. A gonadectomia hatása***Háttér, célkitűzés:*

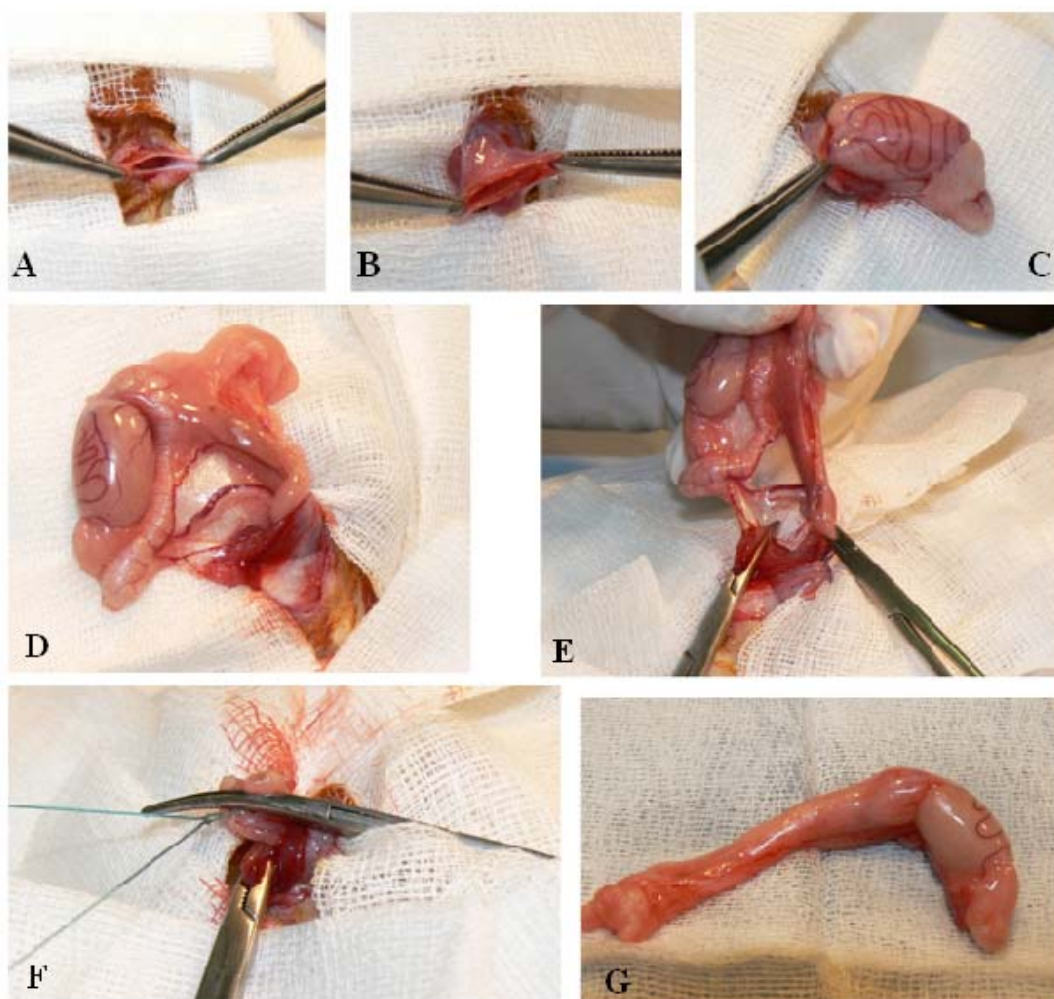
A micro-rheológiai faktorok (vörösvérsejt aggregatio, vörösvérsejt deformabilitás) nemi különbségeire utaló adatok felvetették a kérdést, hogy a nemi hormonszint-változások, így a művi gonadectomia (GoE) okozhat-e további eltéréseket, s mennyiben egyenlítődnek ki a nemek között talált rheológiai különbségek. E kérdéskörnek további fontos klinikai relevanciája lehet. A nemi hormonok, elsősorban az oestrogen ischaemia-reperfúzióval szembeni védő hatását számos tanulmány támasztja alá.<sup>45,95,117,179,215,217,229,244,286,300,304,353</sup>

Ezt a hatást a tesztosteron vonatkozásában is kimutatták már.<sup>47</sup> A gonádok fiziológiás (pl. menopausa) vagy patológiás hormonális funkcióváltozása összetett hatást gyakorol számos élettani paraméterre, haematológiai változókra (pl. fehérvérsejt- és thrombocytaszám), vér coagulációs paraméterekre, az endothel-funkciókra, a komplex neuroendocrin és immunrendszerre.<sup>13,125,128,149,187,192,201,216,283,301,324</sup> Nemcsak a fiziológiás változások, mint a menopausa, de a trauma, lézió vagy leggyakrabban tumorok miatt végzett sebészeti orchidectomia és ovariectomia következtében kialakult hormonális eltérések vagy hormonszubsztitúció tekintetében is kevésbé ismertek és ellentmondásosak a haemorheológiai változások.<sup>124,131,180,202,249,254,280,291,292,300,324,341,353</sup>

*Anyagok és módszerek:*

A kísérletben (engedélyszám: 37/2007. DE MÁB) 20 azonos korú hím (455,16±38,23 g) és 16 nőstény (286,63±13,32 g) Sprague-Dawley patkányt vizsgáltunk. Nőstényekben az oestrus ciklus aktuális fázisának megítélésére hüvelykeneteket vettünk (Giemsa-festés, leukocyták és hámsejtek arányának vizsgálata).<sup>322</sup> Valamennyi nőstény állat a kísérlet kezdetén pro-oestrus fázisban volt.

A Kontroll hím (n=10) és Kontroll nőstény (n=6) csoportokban a vérvételeken kívül beavatkozás nem történt. A GoE hím csoportban (n=10) altatásban (60 mg/kg Thiopental<sup>®</sup>, i.p.) a scrotum megnyitását követően mindkét oldali here és a mellékhere eltávolításra került, majd a bőrsébet zártuk (4/0 Dexon<sup>®</sup>) (52. ábra). GoE nőstény csoportban (n=10), altatásban 2 cm-es alsó median laparotomia során mindkét oldali ovarium és a tuba uterina a cornu uteri-k distalis felével együtt eltávolításra került, majd réteges sebzés következett (53. ábra).

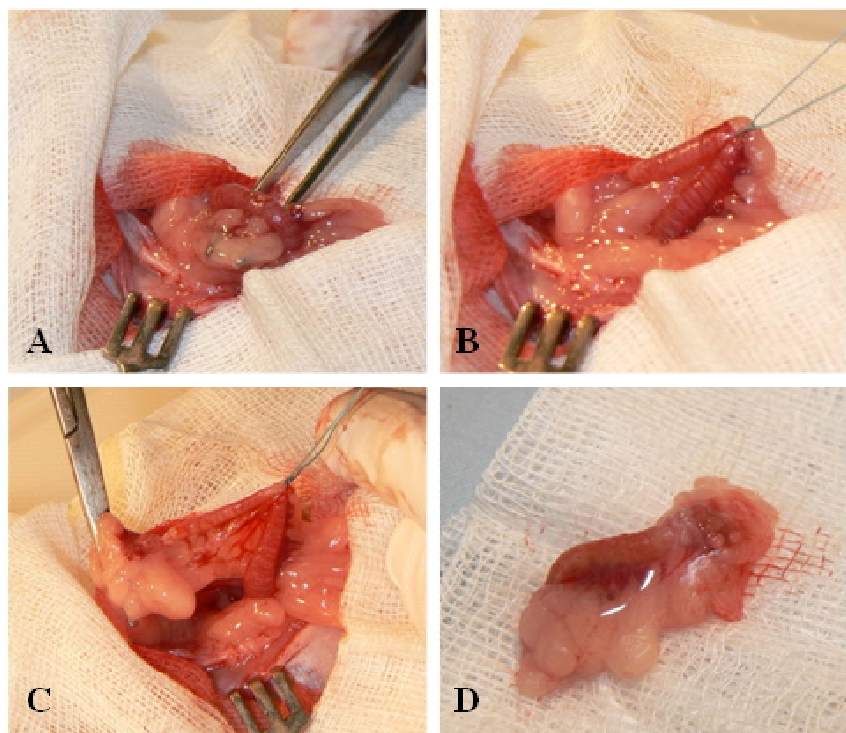


**52. ábra**

Az orchidectomia főbb műtéti lépései patkányban: a scrotum külső rétegeinek (A) és a tunica vaginalis megnyitása (B), a here és függelékeinek atraumatikus előemelése (C, D), a ductus deferens és a vasculatura lefogása, gondos lekötése (E, F), a here eltávolítása (G), majd a scrotum seb zárása. (saját tanszéki fotóanyag)

A műtét előtt, az 1., 2. és 3. postoperatív hónapban vérvétel történt a farokvéna punctiójával (0,6-0,8 ml alkalmanként, anticoagulans: 1,5 mg/ml Na-EDTA). A műtétet követően, valamint az 1. postoperatív napon mindegyik csoport állatai fájdalomcsillapítót kaptak (2,5 mg/kg Flunixin<sup>®</sup>, s.c.).

A vérmintákból meghatározásra kerültek a haematológiai paraméterek, a vörösvérsejt deformabilitás ektacytometriás módszerrel (Rheoscan D-200 slit flow ektactometer, szuszpenziós oldat: PVP 360 kDa, viszkozitás = 28,8 mPas, ozmolalitás = 305 mOsm/kg; pH = 7,36) és a vörösvérsejt aggregatio fénytranszmissziós módszerrel (Myrenne MA-1 aggregometer). A plazma mintákból elektrokemilumineszcenciás módszerrel történt a testosteron és oestrogen (E2) szint mérése.



**53. ábra**

Az ovariectomia főbb műtéti lépései patkányban: alsó median laparotomia, majd az uterus felkerése és a cornu uteri mentén a tuba uterine atraumatikus előemelése (A), a cornu területén ligatura felhelyezése (B), az ovarium indentifikálása, a ligamentum suspensorium ovarii, valamint az a. et v. ovarica együttes lefogása, ligatúrája (C), majd az ovarium és a tuba eltávolítása (D), amelyet gondos revízió utáni hasfálzárás követ. (saját tanszéki fotóanyag)

#### *Eredmények:*

A kiindulási testúlyhoz képest a kontroll nőstények nem mutattak számottevő változást, míg a kontroll hímek súlya növekedett a 3 hónapos követési periódus során (relatív változás mértéke az alap vs. 3. hónap tekintetében:  $1,25 \pm 0,12$ ,  $p=0,024$ ). A GoE nőstények testsúlya fokozatos és szignifikáns mértékű növekedést mutatott (1. hónap:  $1,22 \pm 0,19$ , 2. hónap:  $1,29 \pm 0,23$ , 3. hónap:  $1,32 \pm 0,21$ ), amely szignifikáns volt az alapértékekhez képest ( $p < 0,001$ ) és a kontroll nőstények azonos hónapi (1. hónap:  $p=0,011$ , 2. hónap:  $p=0,016$ , 3. hónap:  $p=0,011$ ) és GoE hímek adataihoz képest is (1. hónap:  $p=0,038$ , 2. hónap:  $p=0,007$ , 3. hónap:  $p=0,004$ ). A GoE hímek testsúlya a kontroll hímekéhez hasonló maradt.

Ovariectomiát követően az oestrogen szint 40-50%-kal csökkent (alap:  $24,79 \pm 15,7$  pg/ml, 1. hónap:  $13,9 \pm 2,34$  pg/ml, 2. hónap:  $16 \pm 2,4$  pg/ml, 3. hónap:  $14,8 \pm 5,1$  pg/ml). Orchidectomia után a testosteron szint a méréshatár szintje alá esett (alap:  $8,56 \pm 3,67$  nmol/l, 1. hónaptól:  $< 0,069$  nmol/l).

A rheologiai szempontból fontos haematologiai paraméterek közül a fehérvérsejtszám a GoE csoportokban mutatott jelentős változást: az 1. postoperatív hónapban emelkedett ( $p=0,006$  vs. alap,  $p < 0,001$  vs. Kontroll) majd a 2. postoperatív hónapban (GoE nőstények:  $p=0,049$  vs. Kontroll) és a 3. hónapban (GoE hímek:  $p=0,002$  vs. Kontroll) is magasabb



értéket mutatott. A vörösvérsejtszám és a haematocrit kismértékben a hímekben volt mindvégig magasabb, függetlenül a gonadectomiától. A thrombocyta szám a GoE hímekben szignifikánsan emelkedett az 1. és 3. postoperatív hónapban az alapértékekhez ( $p=0,022$ ,  $p=0,007$ ) és a GoE nőstény csoporthoz képest ( $p<0,001$ ,  $p=0,005$ ).

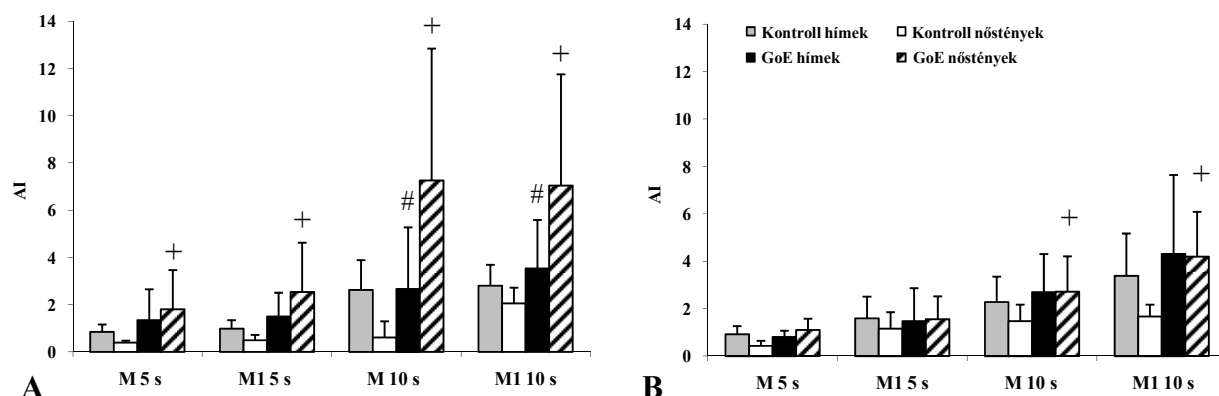
A vörösvérsejt deformabilitás kiindulási értékei jól tükrözték a korábban leírt nemi különbségeket, amelyek megtartottak maradtak a kontroll csoportokban. A GoE csoportokban ezek a különbségek konvergálnak látszottak egymáshoz. A GoE hímekben és nőstényekben magasabb elongációs index értékeket mutatott az 1. postoperatív hónapban (EI 3 Pa-nál:  $p=0,002$ ,  $p=0,004$  vs. alap), majd a 2., és kifejezettebben a 3. hónapban is magasabb értékeket találtunk ( $p<0,001$ ,  $p=0,019$  vs. alap). A görbék parametrizálásával nyert adatok megerősítették a különbségeket. A gonadectomizált hímek  $EI_{max}$  és annak feléhez tartozó  $SS_{1/2}$  értékek szignifikáns mértékben csökkentek a második és harmadik postoperatív hónapra, jelentős vörösvérsejt deformabilitás változásra utalva (XIII. táblázat).

**XIII.** Az elongációs index (EI) – nyírófeszültség (SS) görbékéből kalkulált maximális elongációs index ( $EI_{max}$ ) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség értékek ( $SS_{1/2}$  [Pa]) változásai a Kontroll és a Gonadectomizált (GoE) hím és nőstény csoportokban.

Paraméter	Csoport	Nem	Alap	Postoperatív hónapok		
				1.	2.	3.
EI 3 Pa-nál	Kontroll	Hím	$0,328 \pm 0,018$	$0,340 \pm 0,016$	$0,350 \pm 0,011^{*}\#$	$0,331 \pm 0,015 \#$
		Nőstény	$0,350 \pm 0,007$	$0,345 \pm 0,009$	$0,360 \pm 0,012$	$0,345 \pm 0,008$
	GoE	Hím	$0,317 \pm 0,02$	$0,336 \pm 0,015 *$	$0,336 \pm 0,021 *$	$0,339 \pm 0,016 *$
		Nőstény	$0,327 \pm 0,02$	$0,345 \pm 0,014 *$	$0,335 \pm 0,021 +$	$0,342 \pm 0,011 *$
$EI_{max}$	Kontroll	Hím	$0,595 \pm 0,018$	$0,590 \pm 0,022$	$0,566 \pm 0,013^{*}\#$	$0,573 \pm 0,011^{*}\#$
		Nőstény	$0,602 \pm 0,028$	$0,586 \pm 0,015$	$0,586 \pm 0,012$	$0,585 \pm 0,012$
	GoE	Hím	$0,589 \pm 0,028$	$0,576 \pm 0,018 +$	$0,561 \pm 0,017^{*}\#$	$0,572 \pm 0,02 *$
		Nőstény	$0,578 \pm 0,023$	$0,585 \pm 0,015$	$0,579 \pm 0,03 +$	$0,581 \pm 0,023$
$SS_{1/2}$ [Pa]	Kontroll	Hím	$2,65 \pm 0,32 \#$	$2,48 \pm 0,45$	$2,04 \pm 0,18 *$	$2,32 \pm 0,25 *$
		Nőstény	$2,45 \pm 0,49$	$2,29 \pm 0,35$	$2,14 \pm 0,24$	$2,24 \pm 0,17$
	GoE	Hím	$2,84 \pm 0,54 \#$	$2,33 \pm 0,4 *$	$2,24 \pm 0,48 *$	$2,22 \pm 0,37 *$
		Nőstény	$2,49 \pm 0,4$	$2,25 \pm 0,37$	$2,43 \pm 0,6$	$2,23 \pm 0,41$

átlag $\pm$ S.D., \* $p<0,05$  vs Alap; # vs. Nőstény; + vs. Kontroll (ANOVA, Bonferroni módszer)

A vörösvérsejt aggregatio a 2. postoperatív hónapban szignifikáns növekedést mutatott mind a GoE nőstény, mind a GoE hím csoportban. A legnagyobb mértékű aggregációs index emelkedés a GoE nőstényeknél volt megfigyelhető, szignifikáns mértékben különbözve a Kontroll adatoktól (M 5 s:  $p=0,003$ ; M1 5 s és M 10 s:  $p<0,001$ ; M1 10 s:  $p=0,002$ ). A 3. postoperatív hónapra az aggregációs index értékek kismértékben csökkentek, de a GoE nőstényekben még mindig szignifikánsan magasabbak voltak a Kontroll értékekhez képest (M 10 s:  $p=0,034$ ; M1 10 s:  $p<0,001$ ) (54. ábra).



**54. ábra**

Az aggregatiós index (AI) (M és M1 mód, 5. és 10. secundum) értékek a 2. (A) és a 3. (B) hónapban átlag  $\pm$  S.D., #  $p < 0,05$  vs. nőstény, +  $p < 0,05$  vs. Kontroll (ANOVA, Bonferroni módszer)

*Konklúzió:*

A gonadectomia hatására a micro-rheológiai paraméterek tehát eltérő mértékben változtak hím és nőstény patkányokban. Az oestrogen szint csökkenése nagyobb arányú romlást okozott a vörösvérsejt aggregációban és deformabilitásban, mint a testosteron szint csökkenése. A változások a 2. és a 3. postoperatív hónapban voltak a legnagyobb mértékűek.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Németh N, Kiss F, Magyar Zs, Miszti-Blasius, Furka I, Clin Hemorheol Microcirc 2012;50:231-243.

## 7. AZ ISCHAEMIA-REPERFUSIO HAEMORHEOLOGIAI ÉS MICROCIRCULATIÓS VONATKOZÁSAI

### 7.1. Szisztémás és lokális haemorheológiai változások vizsgálata

A 2.5. fejezetben ismertetett mechanizmusok révén az ischaemia-reperfusio összetett módon van hatással a vér macro- és micro-rheológiai paramétereire. Kutatómunkánk során több kísérletes modellt alkalmaztunk, kimutatva a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns mértékű romlását 1 órás végtagi ischaemiát követően patkányokban az 1. és 2. postoperatív napokon, amely a xantin-oxidáz inhibitor allopurinollal kivédhető volt.<sup>238</sup> A 2001-2004 között végzett végtagi ischaemia-reperfusió haemorheológiai kutatásaink eredményeinek főbb következtetéseit az alábbiakban lehetett összefoglalni:<sup>49,118,238,239,250</sup>

- A vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns mértékben romlik ischaemia-reperfusio során és azt követően az 1-3. postoperatív napon. A károsító hatások egy része kivédhető antioxidáns szerek alkalmazásával.
- Az időfaktor (ischaemia időtartama) és a hőmérséklet (lokális hűtés hatása) meghatározó tényezők a változások nagysága tekintetében.
- A lokális és szisztémás micro-rheológiai változások valódi mértéke azonban még mindig kevésbé ismert, s főként a mikrokeringési zavarok összefüggéseiben további, komplex vizsgálatok szükségesek.

Kimutattuk, hogy végtagi ischaemiát követően a csökkenő vér pH és lokális haemoconcentratio a reperfusio első órájában arterio-venosus különbségeket mutathat. A lokális és szisztémás rheológiai különbségek és változások újabb vizsgálatai (2015-ig) további adatokat nyújtottak végtagi-, izomlebeny-, bél- és here ischaemia-reperfusio és cerebrális hypoperfusio során patkány-, kutya- és sertés modelleken, valamint az aorta abdominalis infra- és suprarenalis leszorítása-felengedése kapcsán együttesen vizsgált máj-, bél- és vese mikrokeringési változások, valamint sav-bázis- és micro-rheológiai paraméterek arterio-venosus elemzésével patkánymodellen.

#### 7.1.1. Végtagi ischaemia-reperfusio haemorheológiai hatásának nemi különbségei és gonadectomia után kimutatható eltérései

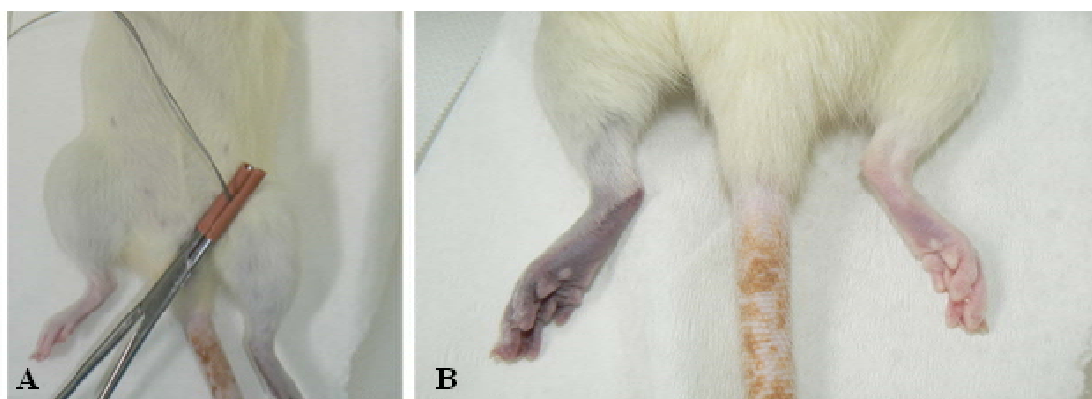
*Háttér, célkitűzések:*

A haemorheológiai faktorok nemi különbségeinek, a gonadectomia micro-rheológiai paraméterekre kifejtett hatásainak, továbbá az ischaemia-reperfusio során bekövetkező változások eddigi ismeretében felmerült a kérdés, hogy a létrejövő haemorheológiai eltérések mennyire mutathatnak nemi különbségeket. További kérdés, hogy gonadectomiát követően kialakuló ischaemia-reperfusio során várható-e additív jellegű különbség?

Célul tűztük ki az 1 órás végtagi ischaemia és az azt követő reperfusió micro-rheológiai hatásának vizsgálatát hím és nőstény patkányokban, elemezve a gonadectomia után létrehozott I/R befolyásoló hatását.

### *Anyagok és módszerek:*

Kísérleteink során (engedélyszám: 37/2007., 17/2008. DE MÁB) Sprague-Dawley patkányokat az alábbi csoportokba soroltuk: I. Kontroll hím (n=8, 573,6±82 g) és II. Kontroll nőstény csoportok (n=8, 326±11,8 g): 2 órás altatás és a többi csoporthoz hasonlóan vérvételek történtek. III. Ischaemia-Reperfúziós (I/R) hím (n=7, 586,2±54,1 g) és IV. I/R nőstény csoportok (n=7, 306,7±14,9 g): altatásban a bal hátsó végtag 1 órás ischaemiáját tourniquet-vel idéztük elő (55. ábra). Az ischaemia meglétét LD-01 laser Doppler szöveti áramlásmérővel igazoltuk. Az ischaemia előtt és után, valamint az 1., 2., 3. és 7. postoperatív napon a lateralis farokvénából vért vettünk (0,3-0,5 ml; Na-EDTA 1,5 mg/ml). V. Gonadectomia és végtagi Ischaemia-Reperfúziós (GoE+I/R) hím (n=10, 508,8±33,2 g) és VI. GoE+I/R nőstény csoportok (n=10, 384,8±43,3 g): a gonadectomiát (52., 53. ábra) követő 3. hónapban történt az ischaemia-reperfúzió és a vérvételek kivitelezése. A műtétet követően, valamint az 1. postoperatív napon az állatok analgeticumként Flunixin®-t kaptak (2,5 mg/kg, s.c.). A vérmintákból meghatároztuk a haematológiai paramétereket, a vörösvérsejt deformabilitást (Rheoscan D-200 slit flow ektacytometer) és a vörösvérsejt aggregációt (Myrenne MA-1 aggregometer). A változások kimutathatóságának mértékét a Cohen-módszer szerint kalkulált standardizált differencia kiszámításával is elemeztük (5.7. fejezet).<sup>298</sup>



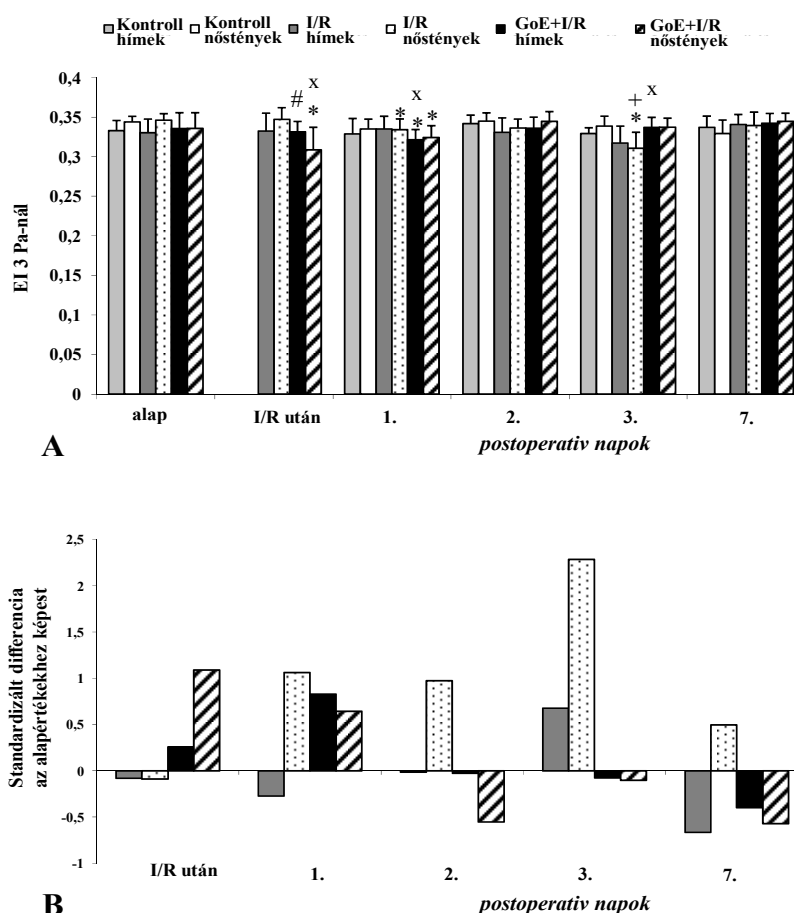
**55. ábra**

A végtagi ischaemia-reperfúzió tourniquet-vel való előidézése (A) és az 1 órás ischaemiát követő makroszkópikus képa végtagokról (B) (saját tanszéki fotóanyag)

### *Eredmények:*

A hím GoE+I/R csoportban találtuk a legmagasabb fehérvérsejtszám emelkedést (1. postoperatív nap:  $p < 0,001$  vs. alap, vs. Kontroll hím és vs. GoE+I/R nőstény,  $p = 0,002$  vs. I/R hím). Ezek a különbségek a vizsgált postoperatív időszakban végig megmaradtak. A GoE+I/R nőstényekben hasonló, de kisebb mértékű fehérvérsejtszám emelkedés volt megfigyelhető (1. és 2. postoperatív nap:  $p < 0,001$  vs. alap, vs. Kontroll nőstény, vs. I/R nőstény; 3. nap:  $p = 0,007$  vs. alap,  $p = 0,008$  vs. Kontroll nőstény; 7. nap:  $p = 0,003$  vs. alap,  $p < 0,001$  vs. Kontroll és I/R nőstény).

A vörösvérsejt deformabilitás tekintetében a Kontroll csoportokban egyik nemnél sem mutatkozott számottevő változás. Az I/R csoportokban az 1-3. postoperatív napokon látszott jelentős vörösvérsejt deformabilitás romlás, amely nőstényeknél nagyobb mértékű volt. A 3 Pa nyírófeszültségnél mért elongációs index értékek a GoE+I/R nőstény csoportban szignifikánsan alacsonyabbak voltak közvetlenül az ischaemia után ( $p=0,003$  vs. alap,  $p<0,001$  vs. I/R nőstény,  $p=0,016$  vs. GoE+I/R hím). Az 1. postoperatív napon az I/R nőstény és mindkét GoE+I/R csoportban az EI értékek tovább csökkentek, hímeknél szignifikáns különbséget mutatva az ép és gonadectomisált csoportok között is ( $p=0,025$ ). A 3. postoperatív napon további romlás mutatkozott az I/R hímeknél, a legnagyobb mértékben az I/R nőstényeknél ( $p<0,001$  vs. alap és Kontroll nőstények). A 7. napra az értékek normalizálódtak (56. ábra).



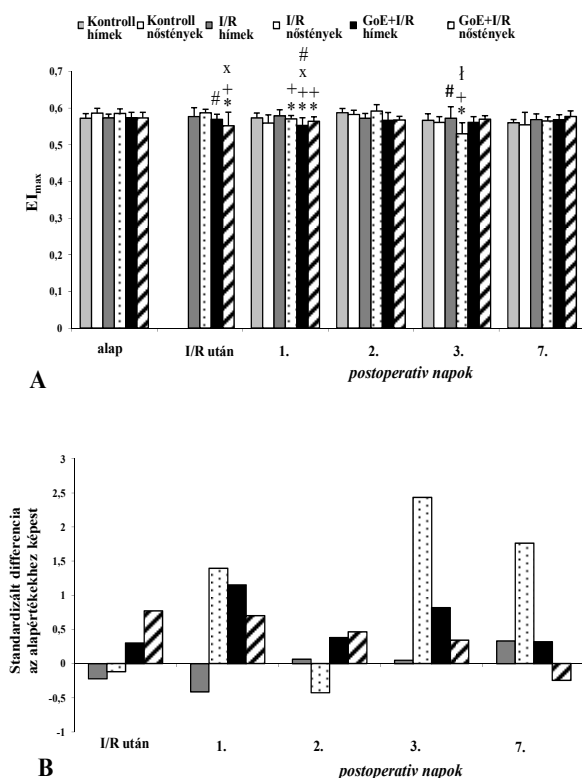
**56. ábra**

A 3 Pa nyírófeszültségnél mért elongációs index (EI) értékek a Kontroll, ischaemia-reperfúziós (I/R) és a gonadectomia+ischaemia-reperfúziós (GoE+I/R) hím és nőstény csoportokban (A), valamint az I/R és GoE+I/R csoportok alapértékeikhez viszonyított standardizált differencia értékei (B).

átlag  $\pm$  S.D., \*  $p<0,05$  vs. alap, #  $p<0,05$  vs. nőstény, +  $p<0,05$  vs. azonos nemű Kontroll, x  $p<0,05$  vs. azonos nemű I/R (ANOVA Dunn vagy Bonferroni módszerek)

A kalkulált  $EI_{\max}$  és  $SS_{1/2}$  értékek ezeknek megfelelően változtak, megerősítve az elongatiós index adatokat. A postischaemiás vérminták közül a GoE+I/R nőstényeknél mutatkozott az alapértékekhez viszonyított legmagasabb standardizált differencia érték (1,09), míg az 1-3. postoperatív napokon az I/R nőstény csoport vérmintáiban találtuk a legnagyobb értékeket (1,06, 0,97 és 2,28) (57. és 58. ábra).

A vörösvérsejt aggregatio a GoE+I/R nőstény csoport postischaemiás mintáiban szignifikánsan emelkedett volt (M 5 s:  $p < 0,001$  vs. I/R nőstény; M 10 s:  $p = 0,019$  vs. alap). Az 1. postoperatív napon mind a négy ischaemia-reperfúziós csoportban szignifikánsan megemelkedtek az aggregációs index értékek, az alapértékekhez viszonyítva. A 3. napon az I/R hím csoportban egy újabb aggregatio fokozódás mutatkozott, amely a 7. napon már nem látszott (59. ábra).



**57. ábra**

A maximális elongációs index ( $EI_{\max}$ ) értékek a kísérleti csoportokban (A), valamint az alapértékekhez viszonyított standardizált differencia értékek (B).

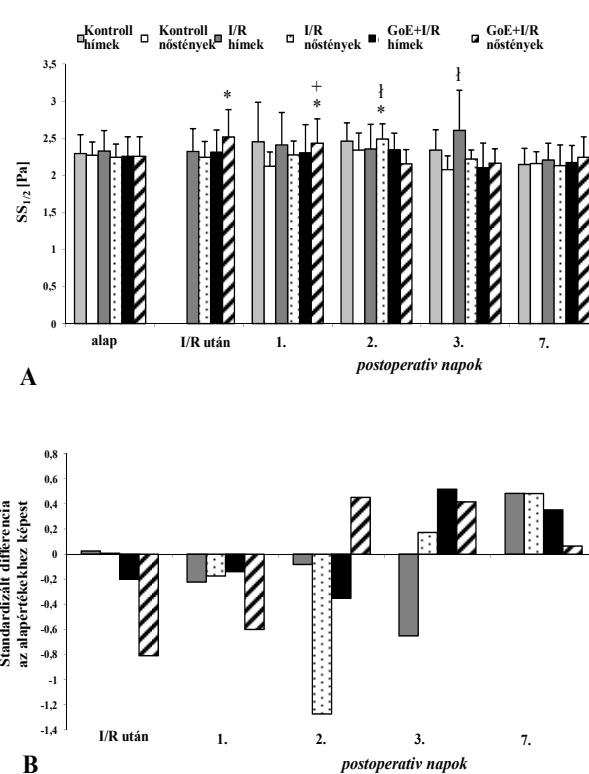
átlag  $\pm$  S.D.,

\*  $p < 0,05$  vs. alap, #  $p < 0,05$  vs. nőstény,

+  $p < 0,05$  vs. azonos nemű Kontroll,

x  $p < 0,05$  vs. azonos nemű I/R,

†  $p < 0,05$  vs. azonos nemű GoE+I/R



**58. ábra**

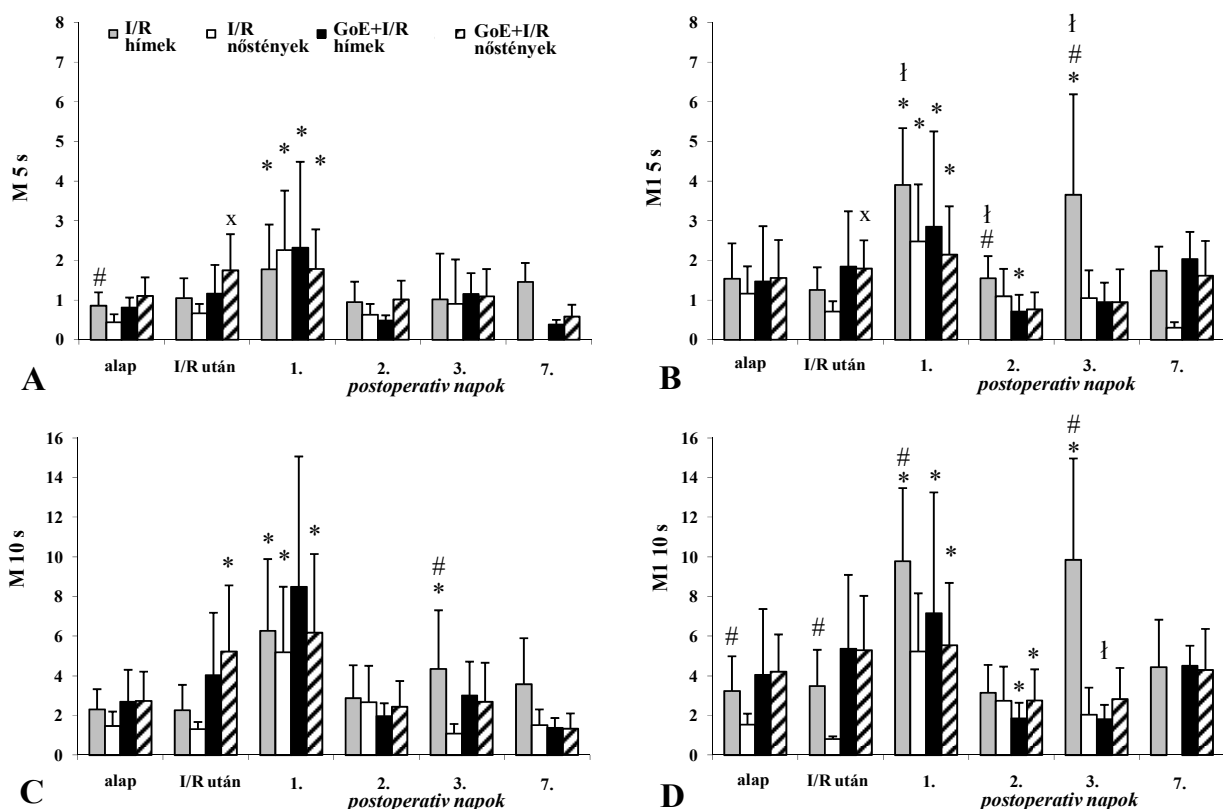
Az  $EI_{\max}$  feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$  [Pa]) értékek a kísérleti csoportokban (A), valamint az alapértékekhez viszonyított standardizált differencia értékek (B).

átlag  $\pm$  S.D.,

\*  $p < 0,05$  vs. alap,

+  $p < 0,05$  vs. azonos nemű Kontroll,

†  $p < 0,05$  vs. azonos nemű GoE+I/R



59. ábra

A vörösvérsejt aggregációs index értékek (M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s) az ischaemia-reperfúziós (I/R) és a gonadectomia+ischaemia-reperfúziós (GoE+I/R) hím és nőstény kísérleti csoportokban.

átlag  $\pm$  S.D., \*  $p < 0,05$  vs. alap, #  $p < 0,05$  vs. nőstény, x  $p < 0,05$  vs. azonos nemű I/R, †  $p < 0,05$  vs. azonos nemű GoE+I/R

#### Konklúzió:

A változások összegzéseként elmondható, hogy az 1 órás végtagi ischaemia-reperfúzió haemorheológiai hatásai nemi különbségeket mutattak patkányokban. Jelentős vörösvérsejt deformabilitás romlást az 1-3. postoperatív napokon figyelhattunk meg, legnagyobb mértékben nőstényekben a 3. napon.

A gonadectomia további „rheológiai rizikófaktort” jelenthet a micro-rheológiai paraméterek változásainak tükrében. Gonadectomisált nőstényekben az ischaemiát követően találtunk romlott vörösvérsejt deformabilitást fokozott vörösvérsejt aggregációval párosulva.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Németh N, Kiss F, Hevér T, Bráth E, Sajots E, Furka I, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2012;50:197-211.

### 7.1.2. Latissimus dorsi izomlebens ischaemia-reperfusio haemorheológiai hatásai

#### *Háttér, célkitűzés:*

A rekonstrukciós sebészetben megfelelő indikációval jól alkalmazható latissimus dorsi izomlebens ischaemia-reperfúziójának haemorheológiai hatásairól kevés adat ismert. Célul tűztük ki az 1 órás ischaemia és az azt követő reperfusio hatásának elemzését egy hetes követéses vizsgálat során canis modellen.

#### *Anyagok és módszerek:*

A vizsgálatokat beagle kutyákon végeztük (engedélyszám: 6/2006. DE MÁB). Altatásban (ketamin 10 mg/kg és xylazin 1 mg/kg, i.m.) mindkét oldalon a musculus latissimus dorsi-t ellátó thoracodorsalis ér-idegképleteket kipreparáltuk (60. ábra), az izmot a mellkasfalról leválasztottuk, a perforans ágakat coaguláltuk. Bal oldalon a lebens (~25x10 cm) érnélét atraumatikusan 1 órára leszorítottuk. A jobb oldali lebens kontrollként szolgált. A lebens mikrokeringését laser Doppler szöveti áramlásmérővel monitorozuk. A leszorítás előtt, majd a reperfusio 5., 15., 30., 45. és 60. percében a vena thoracodorsalisból vért vettünk (24 G-s branül, alkalmanként 0,5 ml), párhuzamosan a kontroll oldalról is, a haematológiai paraméterek és a vörösvérsejt aggregatio fénytranszmissziós meghatározására. Mindkét oldalon a lebenyek belső felülről izombiopsiát vettünk a leszorítás előtt, után és a reperfusio 60. percében, valamint párhuzamosan a kontroll oldalon is. A méréseket és a mintavételeket követően a lebenyeket 0-s polyamid varróanyaggal (Ethilon) eredeti pozíciójukban rögzítettük, majd a bőrsbet egyszerű csomós öltésekkel zártuk (3/0-s Prolene).

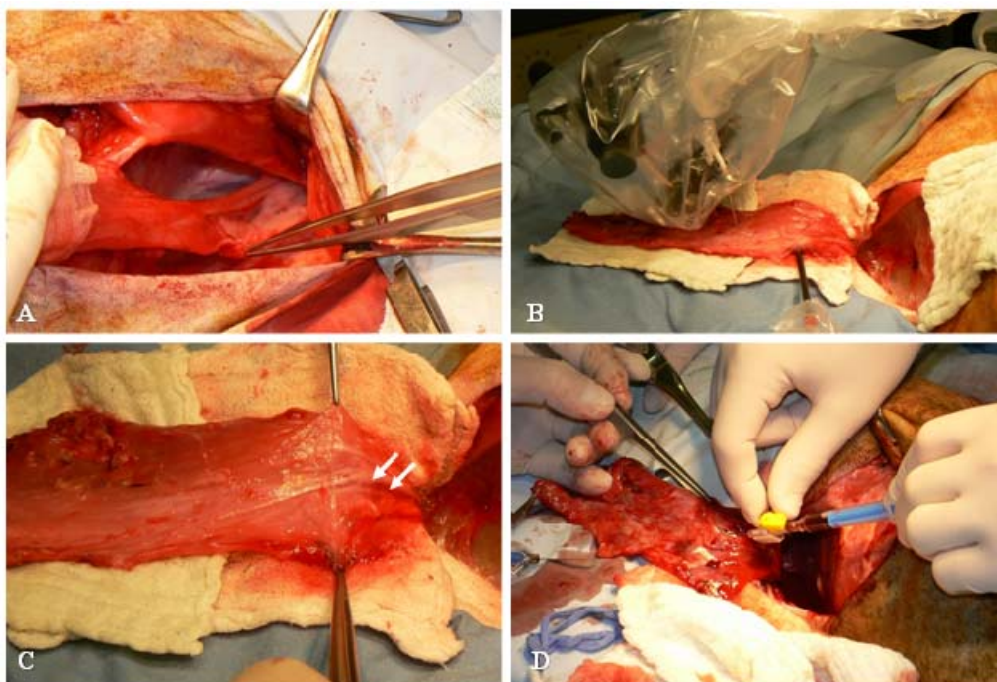
A postoperatív napok során az állatok fájdalomcsillapítót és antibiotikumot (Demalgonil, Baytril) kaptak, és napi sebkontrollt, szükség esetén seb tolett-et végeztünk (Betadinos kezelés). Vérvételek az 1., 3., 5. és 7. postoperatív napon történtek a v. cephalica-ból (22 G-s tű, K<sub>3</sub>-EDTA-s Vacutainer vérvételi csövek). A 7. postoperatív napon altatásban reoperációt végeztünk (61. ábra), feltárjuk mindkét oldalon a lebenyeket, és elvégeztük a mikrokeringési méréseket, a lebenyt drénáló v. thoracodorsalisból vért vettünk, majd izombiopsiák vétele történt. Ezt követően az állatok túlaltatásra kerültek.

#### *Eredmények:*

A fehérvérsejtszám az ischaemiás oldalon emelkedett a reperfusio 5. és 30. percére az alaphoz (5': p=0,019, 30': p=0,042) és a kontroll oldalhoz viszonyítva (5': p=0,01, 30': p=0,011). A postoperatív időszakban a kiindulási értékekhez képest (4,63±0,48 G/l) mindvégig szignifikánsan magasabb fehérvérsejtszámot találtunk: (1. nap: 15,37±5,71 G/l; 3. nap: 15,86±6,03 G/l; 5. nap: 23,16±10,85 G/l; 7. nap: 18,4±4,84 G/l; p<0,001 egyenként).

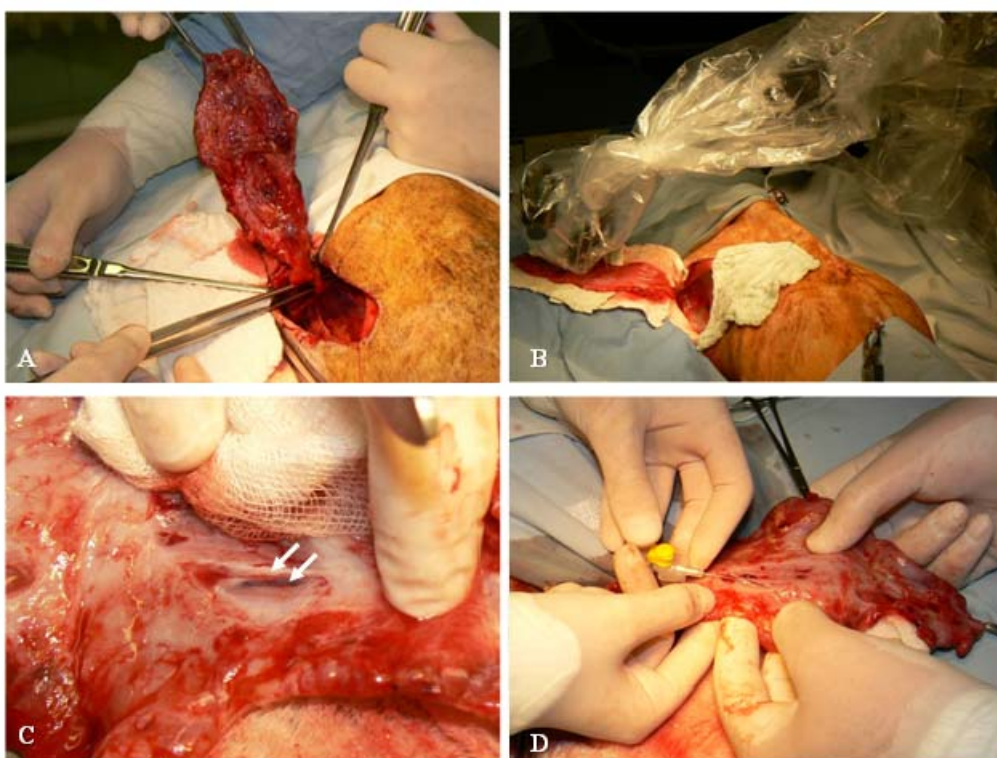
A haematocrit az ischaemiás oldalon a reperfusio 30. percére szignifikánsan nőtt (p=0,007) és a 60. percben is jelentősen magasabb volt, mint a kontroll oldalon (p=0,031) (62. ábra, A). A postoperatív időszakban az első nap kivételével (41,23±12,92 %) csökkenés mutatkozott (37,21±0,8%).





**60. ábra**

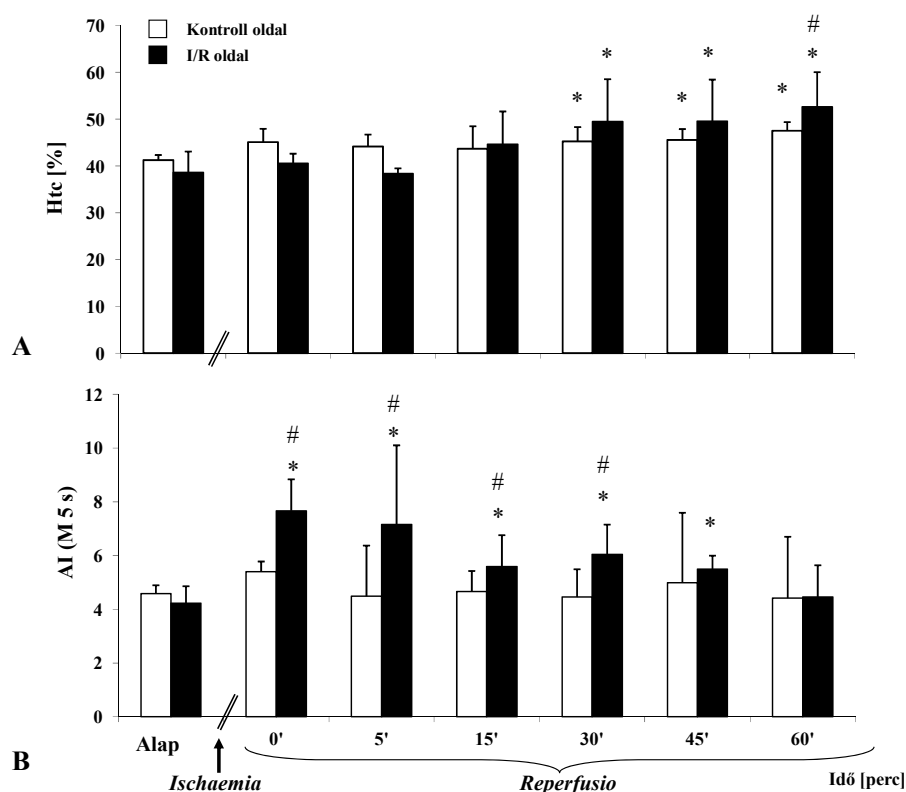
A latissimus dorsi izomlebeny kipreparálása (A), a laser Doppler szöveti áramlásmérés és lebenyhőmérséklet mérés (B), a lebeny ér-ideg képleteinek (nyilak) felkeresése (C), valamint a v. thoracodorsalis-ból történő vérvétel (D) műtéti fotói. (saját tanszéki fotóanyag)



**61. ábra**

A 7. postoperative napon végzett reoperáció során készített képek a latissimus dorsi izomlebeny preparálásáról (A), mikrokeringési vizsgálatairól (B), a lebeny ér képleteinek (nyilak) kipreparálásáról (C), valamint a v. thoracodorsalis-ból történő újbóli vérvétel (D) műtéti fotói. (saját tanszéki fotóanyag)

A vörösvérsejt aggregációs index (M 5 s) emelkedése korábban mutatkozott: az ischaemia végére, valamint a reperfusio 5. percére szignifikáns mértékben mind az alapértékekhez ( $p<0,001$ ,  $p=0,007$ ), mind a kontroll oldalhoz képest ( $p<0,001$ ,  $p=0,047$ ) (62. ábra, B). A postoperatív időszakban a kiindulási értékekhez képest ( $4,57\pm0,29$ ) az első két napon emelkedés, majd normalizálódás indult meg (1. nap:  $7,9\pm2,95$ ; 3. nap:  $12,36\pm0,91$ ,  $p<0,001$ ; 5. nap:  $5,54\pm5$ ; 7. nap:  $6,35\pm2,87$ ).



**62. ábra**  
 A kontroll oldali és az ischaemia-reperfúciónak (I/R) kitett m. latissimus dorsi lebeny vénájából (v. thoracodorsalis) vett kismennyiségű vérminták haematocrit (Htc [%]) (A) és vörösvérsejt aggregációs index (AI) értékei (M 5 s) (B).  
 átlag  $\pm$  S.D., \*  $p<0,05$  vs. alap, #  $p<0,05$  vs. kontroll oldal (ANOVA)

### Összegzés, konklúzió:

A vizsgálatok alapján az 1 órás ischaemiának kitett *in situ* izomlebeny reperfúziójának első 5 percében fokozott aggregatio volt mérhető (tovább ~30 percig), amely nem a lokális vénás haematocrit emelkedésének volt köszönhető. Mindez a lebenyek összetett eredetű mikrokeringési zavarára utalhat. Az I/R egyértelműen károsította a lebenyeket. Az értekezésben nem részletezett oxidatív stressz markerek közül a glutathion-peroxidáz aktivitás nem mutatott jelentős változást a 7. postoperatív napra, de a redukált glutathion mennyiség mindkét oldali lebenyben csökkent. A karbonil-tartalom már az ischaemia végére megemelkedett a leszorított lebenyekben, és további növekedést mutatott a reperfusio 60. percére. A 7. napra már mindkét oldali lebenyben jelentősen fokozott volt. A thiobarbiturát

reaktív anyag tartalom a reperfusio végére emelkedett meg a leszorított oldali lebenyben. A 7. napra szignifikáns különbség adódott a kontroll oldalhoz képest. Ekkorra a szövettani vizsgálatok jelentős leukocita infiltrációt, degeneratív rostok jelenlétét és a myocyták eosinophyliáját mutatták ki.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Tamás R, Németh N, Bráth E, Sásvári M, Nyakas C, Debreczeni B, Mikó I, Furka I, Microsurgery 2010;30:282-288.

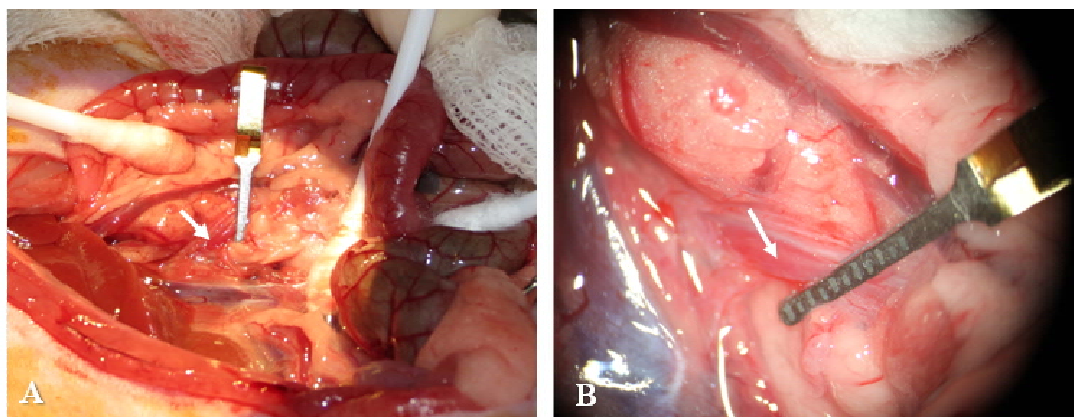
### 7.1.3. Vékonybél ischaemia-reperfusio micro-rheologiai hatásai

#### *Célkitűzés:*

A lokális és szisztémás korai micro-rheologiai változások vizsgálatát tűztük ki célul portalis, cavalis vérminták vizsgálatával 30 perces vékonybél ischaemia és az azt követő reperfusió során patkánymodellen.

#### *Anyagok és módszerek:*

Az intestinalis ischaemia-reperfusio lokális és szisztémás haemorheologiai hatásait CD patkányon (n=10, 360,6±46,07 g) elemeztük (engedélyszám: 6/2006. DE MÁB). Az Ischaemia-Reperfusió csoportban altatásban (60 mg/kg Thiopenthal, i.p.) az arteria mesenterica superior 30 percre atraumatikus klippekkel leszorítottuk (63. ábra). Kismennyiségű (egyenként ~0,2 ml; Na-EDTA 1,5 mg/ml) vérmintákat vettünk a vena cava caudalis-ból és a vena portae-ből az ischaemia előtt, 1-1 perccel a klippek felengedése előtt és után, valamint a reperfusio 15., 30. és 60. percében a haematologiai paraméterek, a vörösvérsejt deformabilitás slit flow ektacytometriás és a vörösvérsejt aggregatio fénytranszmissziós meghatározására. A Kontroll állatokban leszorítás nem történt, a vérvételeket az Ischaemia-Reperfusió csoportnál ismertett időpontokban végeztük.

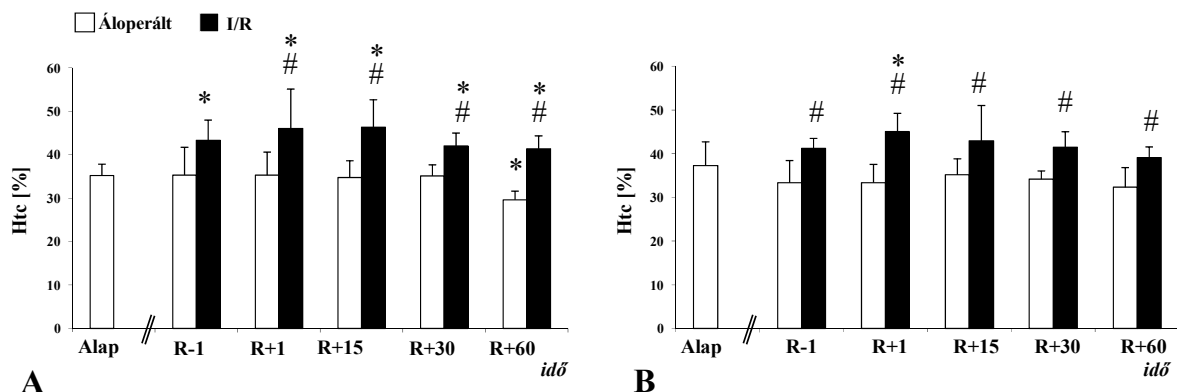


**63. ábra**

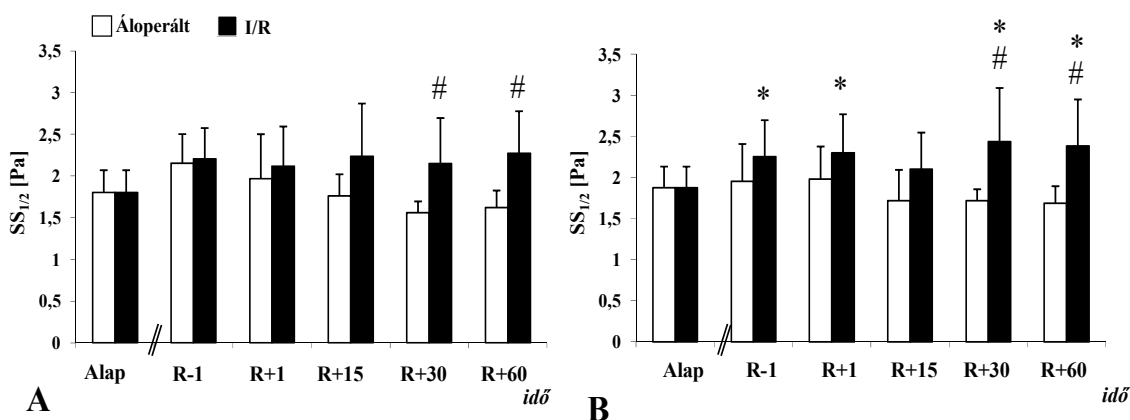
Az a. mesenterica superior (nyilak) microvascularis klippekkel való leszorításának makroszkópos (A) és operáló mikroszkóp alatt készített nagyított (16x) képe (B).  
(saját tanszéki fotóanyag)

### Eredmények:

A haematocrit értékek mind a cavalis, mind a portalis vérmintákban nagyobbak voltak az Áloperált csoport értékeihez képest. Az emelkedés a reperfusio első 15 percében volt a legszembetűnőbb mértékű (64. ábra).



Az Áloperált és az Ischaemia-Reperfúziós (I/R) csoport állatainak vena cava caudalis-ából (A) és vena portae-jából (B) vett kismennyiségű vérminták haematocrit (Htc [%]) értékei a beavatkozás előtt (alap), a 30 perces a. mesenterica superior leszorítás vége előtt 1 perccel (R-1), valamint a reperfusio (R) 1., 15., 30. és 60. percében.  
 átlag  $\pm$  S.D., \*  $p < 0,05$  vs. alap, #  $p < 0,05$  vs. Áloperált csoport (ANOVA)



Az Áloperált és az Ischaemia-Reperfúziós (I/R) csoport állatainak vena cava caudalis-ából (A) és vena portae-jából (B) vett kismennyiségű vérminták vörösvérsejt deformabilitását jellemző maximális elongációs index feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$  [Pa]) értékek a beavatkozás előtt (alap), a 30 perces a. mesenterica superior leszorítás vége előtt 1 perccel (R-1), valamint a reperfusio (R) 1., 15., 30. és 60. percében.  
 átlag  $\pm$  S.D., \*  $p < 0,05$  vs. alap, #  $p < 0,05$  vs. Áloperált csoport (ANOVA)

A vörösvérsejtek deformabilitása az ischaemiát követően jelentősen romlott. A maximális elongációs index feléhez tartozó nyírófeszültség értékek ( $SS_{1/2}$  [Pa]) a vena cava vérmintákban szignifikánsan magasabbak voltak a Kontroll csoporthoz képest a reperfusio 60. percére ( $p < 0,001$ ). A vena portae vérmintákban szignifikánsan rosszabb vörösvérsejt deformabilitást találtunk az ischaemia végén ( $p = 0,014$ ) és a reperfusio kezdetén ( $p = 0,009$ ). A reperfusio 30.

percében érte el a deformabilitás-romlás a csúcspontját, majd a 60. percre mérséklődött, de még ekkor is szignifikánsan különbözött a kontroll értékektől. A vörösvérsejt aggregatio mértéke a reperfusio 60. percére közel 2,5-szer nagyobb volt a lokális vena portae vérmintákban, mint a szisztémás vena cava vérmintákban (65. ábra).

#### *Összegzés:*

A bél mucosa ischaemiás károsodását szövettani vizsgálatokkal igazoltuk (Chiu-féle pontozási rendszer<sup>65</sup> 3. és 4. fokozata látszott: jelentős subepitheliális elemelkedés, denudált villusok, a lamina propria infiltrációja, dilatált capillarisok). A kialakuló károsodással párhuzamosan micro-rheologiai eltérések voltak megfigyelhetők, hasonló mértékben a cavalis (szisztémás) és a portális (lokális) mintákban. Utóbbi esetén a deformabilitás romlás mértéke kifejezettebb volt.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Bráth E, Németh N, Kiss F, Sajtos E, Hevér T, Mátyás L, Tóth L, Mikó I, Furka I, Microsurgery 2010;30:321-326.

### **7.1.4. Supra- és infrarenalis aorta leszorítás hatása**

#### *Háttér, célkitűzések:*

Az aorta leszorítására -annak mellkasi vagy hasi szakaszán- különböző érsebészeti kórképek (pl. aorta aneurysma) és traumás sérülések műtéti megoldásának szükséges velejárójaként kerülhet sor. A beavatkozás eredményét nagymértékben meghatározza a leszorítás helye és ideje.<sup>67,181,188,235,266,284,330,331,350</sup> Az aorta kirekesztése során, függően a leszorítás szintjétől és időtartamától, jelentős ischaemia-reperfusiós károsodás jöhet létre az érintett szervekben a keringésdinamikai és haemostaseologiai eltérések kialakulása mellett.<sup>5,135,160,161,344,350</sup>

A hemodinamikai, micro-rheologiai, sav-bázis változások és az érintett szerveken kialakuló microcirculációs zavarok együttes vizsgálatára patkány modellben volt lehetőségünk.

#### *Anyagok és módszerek:*

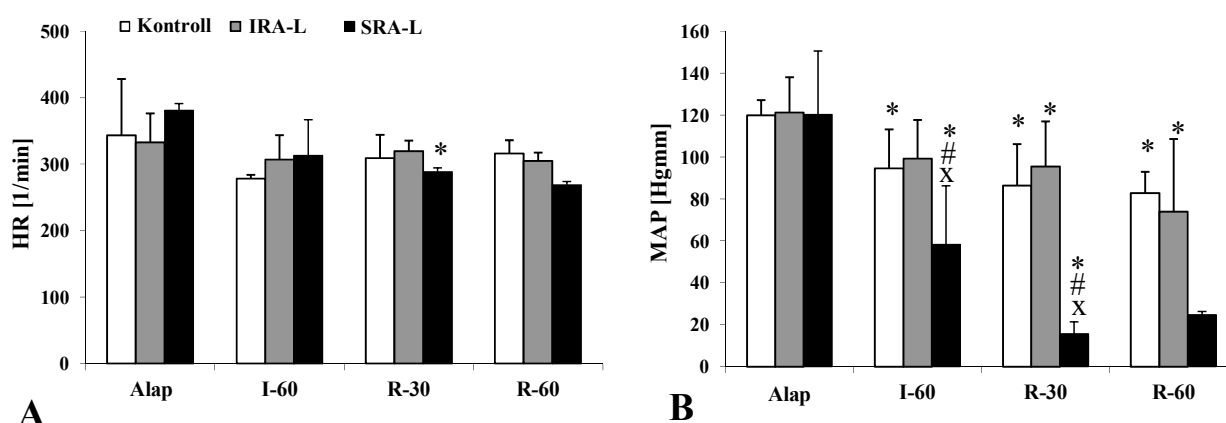
Huszonegy hím Sprague-Dawley patkányt vontunk be a kísérletbe ( $554,04 \pm 27,77$  g). Altatásban (60 mg/ttkg Thiopental, i.p.) feltárássra és kanülálásra került a jobb oldali a. carotis communis. A kanülön keresztül az állatok 100 NE/kg Na-heparint kaptak a kísérlet során. Ezután median laparotomiát végeztünk, az aorta abdominalist és a v. cava caudalist óvatos preparálással közelítettük meg. A kísérleti állatokat három csoportba soroltuk.

- I. Kontroll csoport (n=7): csak preparálás és a kanülálás történt.
- II. Infrarenalis aorta leszorítás csoport (IRA-L, n=7): az aorta abdominalisra 60 percre atraumatikus klippet helyeztünk fel az a. renalis-ok szintje alatt.
- III. Suprarenalis aorta leszorítás csoport (SRA-L, n=7): a 60 perces aorta leszorítást az a. renalis-ok szintje felett elhelyezett atraumatikus klippel végeztük.

Az ischaemia előtt (Alap) és után (I-60), valamint a perfusio 30. (R-30) és 60. percében (R-60) a szívfrekvencia és az artériás középnyomás mérése történt az a. carotis communisba helyezett kanülön keresztül. A máj középső lebenyének elülső felszínén, egy jejunum kacs antimesenterialis szélén és a bal vese középső régiójának elülső felszínén a 4.3. fejezetben részletezett laser Doppler-es szöveti áramlásmérővel monitoroztuk a mikrokeringést ugyanezekben az időpontokban. A vérvételeket a hemodinamikai és mikrokeringési mérések után végeztük. Minden csoportban a kanülált artériából és a vena cava caudalis leszorítás helyétől disztálisan 26 G-s tűvel való punkcióval kismennyiségű (0,6 ml) vérmintákat vettünk (anticoaguláns: 1,5 mg/ml K<sub>3</sub>-EDTA).

#### Eredmények:

A szívfrekvencia vonatkozásában nem volt jelentős eltérés, míg az artériás középnyomás értékek számottevő különbséget mutattak, a suprarenalis csoportban komoly hemodinamikai instabilitást jelezve (az ischaemia végén vs. Alap, vs. Kontroll és vs. IRA-L csoport:  $p < 0,001$ ; R-30: vs. Kontroll és vs. IRA-L  $p < 0,001$ ), ahol a perfusio 60. percére három elhullás is történt (66. ábra).



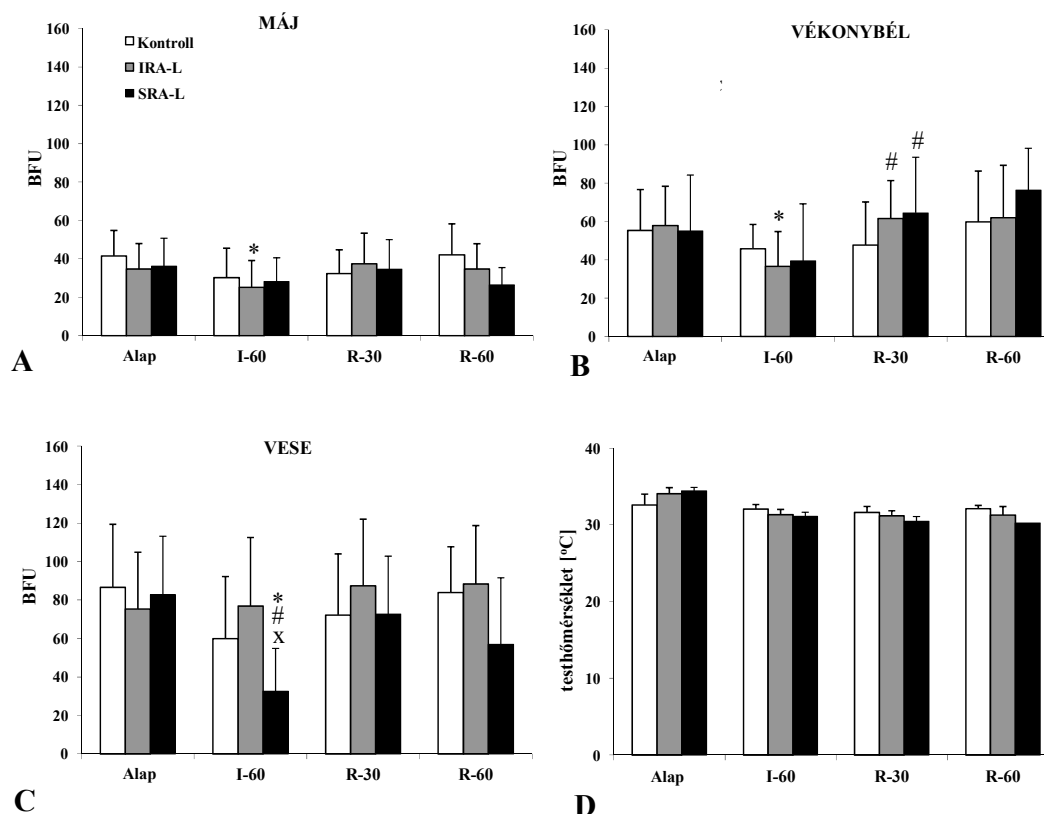
**66. ábra**

A szívfrekvencia (HR [1/min]) és az artériás középnyomás (MAP [Hgmm]) változásai a Kontroll, az infrarenalis (IRA-L), valamint a suprarenalis (SRA-L) aorta leszorítás csoportokban.

Alap = ischaemia előtt; I-60 = ischaemia vége; R-30 = a perfusio 30. perce; R-60 = a perfusio 60. perce  
 átlag ± S.D.; \*  $p < 0,05$  vs. Alap; #  $p < 0,05$  vs. Kontroll; <sup>x</sup>  $p < 0,05$  vs. IRA-L (ANOVA)

A 67. ábra a máj, vékonybél és a vese felszínén mért laser Doppleres mikrokeringési paraméter (blood flux unit, BFU) értékek változásait mutatja be. A BFU a máj vonatkozásában alig mutatott eltérést. Az értékek ugyan kismértékben csökkentek a leszorítás végére, de a perfusio során már megközelítették az alapértékeket. A vékonybélnél az ischaemia alatt a BFU értékek mind a supra-, mind az infrarenalis csoportban jelentősen csökkentek. A perfusio kezdetén megfigyelhető volt egy kismértékű fokozódás, amely a Kontroll értékekhez viszonyítva szignifikáns mértékűnek bizonyult a perfusio 30. percében

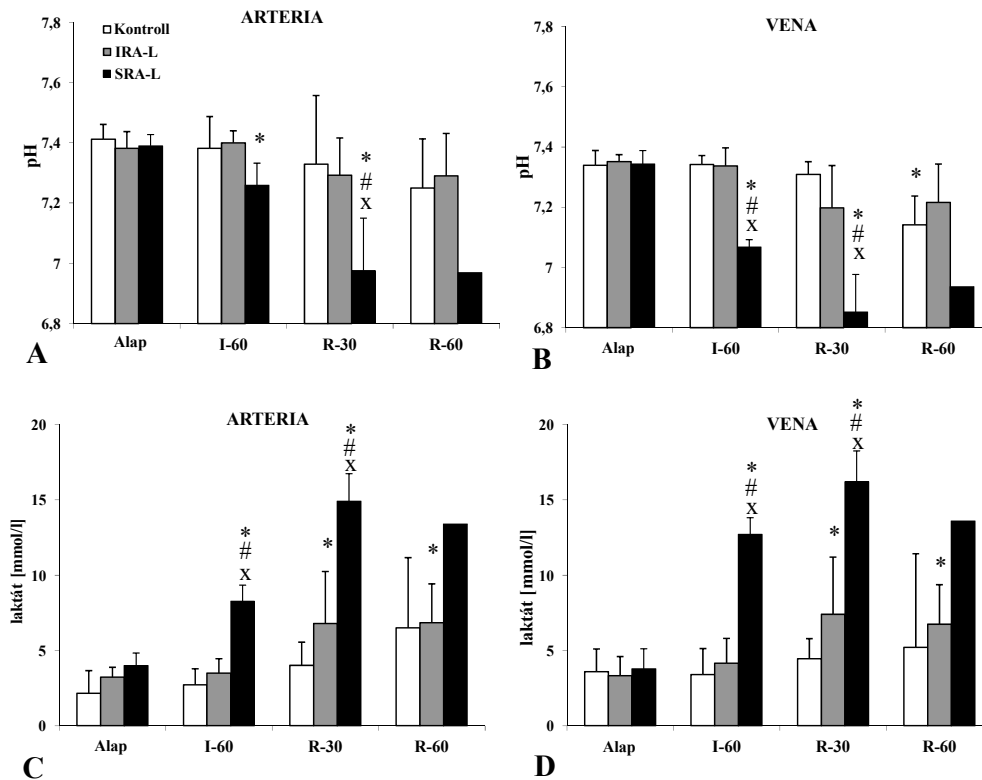
(IRA-L csoportban:  $p < 0,001$ ; SRA-L csoportban:  $p = 0,006$ ). A vese vonatkozásában, ahogy az várható volt, a mikrokeringési értékek eltérő mértékben változtak a két lezorított csoportban. A SRA-L csoportban kifejezetten alacsony értékeket mértünk az ischaemia végére ( $p < 0,001$  vs. Alap, Kontroll, IRA-L), de az értékek a reperfusio során is alacsonyabbnak bizonyultak az IRA-L csoporthoz képest.



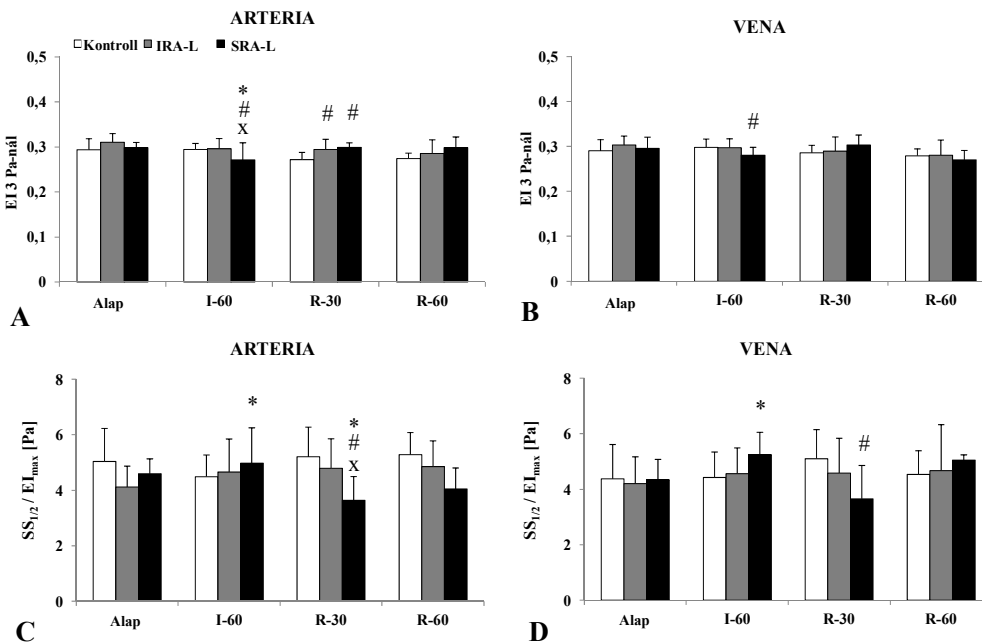
67. ábra

A máj középső lebenyének elülső felszínén (A), egy jejunum kacs antimesenterialis szélén (B) és a bal vese középső régiójának elülső felszínén (C) mért mikrokeringést jellemző értékek (blood flux unit, BFU) változásai a Kontroll, az infrarenalis (IRA-L) és a suprarenalis (SRA-L) aorta lezorítás csoportokban, valamint a testhőmérséklet változásai (°C) a kísérlet során (D). Alap = ischaemia előtt; I-60 = ischaemia vége; R-30 = a reperfusio 30. perce; R-60 = a reperfusio 60. perce átlag  $\pm$  S.D.; \*  $p < 0,05$  vs. Alap; #  $p < 0,05$  vs. Kontroll; X  $p < 0,05$  vs. IRA-L (ANOVA)

Jelentős metabolikus eltéréseket lehetett megfigyelni, a micro-rheológiai értékekkel szimultán változtak az ischaemia végére és a reperfusio során. Az infrarenalis csoportban is mutatózó pH csökkenésnél és laktát koncentráció emelkedésnél nagyobb mértékű változásokat láttunk. A pH csökkenés a suprarenalis csoportban már az ischaemia végén, majd a reperfusio 30. percére jelentős volt, legnagyobb mértékben a vénás vérmintákban (a reperfusio 30. percében vs. Alap:  $p < 0,001$ ; vs. Kontroll:  $p < 0,001$ ; vs IRA-L csoport:  $p < 0,001$ ) (68. ábra, A,B). Ezzel párhuzamosan nőtt a laktát koncentráció, a vénás mintákban nagyobb mértékben ( $p < 0,001$  vs. Alap, vs. Kontroll és IRA-L csoport) (68. ábra, C,D).



**68. ábra**  
A vér pH (A,B) és laktát koncentráció [mmol/l] (B) változásai az artériás és a vénás vérmintákban a Kontroll, az infrarenalis (IRA-L), valamint a suprarenalis aorta leszorítás (SRA-L) csoportokban. Alap = ischaemia előtt; I-60 = ischaemia vége; R-30 = a reperfusio 30. perce; R-60 = a reperfusio 60. perce átlag  $\pm$  S.D.; \*  $p < 0,05$  vs. Alap; #  $p < 0,05$  vs. Kontroll;  $^X p < 0,05$  vs. IRA-L (ANOVA)



**69. ábra**  
A 3 Pa nyírófesztségnél (SS) mért elongációs index (EI) (A,B) és az EI-SS görbék parametizálásból kalkulált  $EI_{max}$  és  $SS_{1/2}$  értékek hányadosának (C,D) változásai az artériás és a vénás vérmintákban a Kontroll, az infrarenalis (IRA-L), valamint a suprarenalis aorta leszorítás (SRA-L) csoportokban. Alap = ischaemia előtt; I-60 = ischaemia vége; R-30 = a reperfusio 30. perce; R-60 = a reperfusio 60. perce átlag  $\pm$  S.D.; \*  $p < 0,05$  vs. Alap; #  $p < 0,05$  vs. Kontroll;  $^X p < 0,05$  vs. IRA-L (ANOVA)



A vörösvérsejt deformabilitást jellemző, 3 Pa nyírófeszültségnél meghatározott elongációs index szignifikánsan csökkent az ischaemia végére a suprarenalis csoportban leginkább az artériás vérmintákban ( $p=0,048$  vs. Kontroll). Az elongációs index – nyírófeszültség görbék parametrizálásából nyert  $El_{max}$  és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség ( $SS_{1/2}$ ) aránya a reperfusio 30. percére mutatott szignifikáns mértékű romlást ( $p=0,012$  vs. I-60 értékek,  $p=0,024$  vs. Kontroll) (69. ábra).

A vörösvérsejt aggregatio mérése során ebben a modellben a nagy szórás és a gyakori zéró értékű adatok miatt (amelyeket az elemzésből kihagytunk) nem találtunk statisztikailag szignifikáns különbségeket.

#### *Összegzés, konklúzió:*

Az eredményeket összefoglalva elmondható, hogy az aortaleszorítás során a legmarkánsabb keringésdinamikai változások a suprarenalis csoportban mutatkoztak a reperfusio alatt, amelyet a vékonybél felszínén a mikrokeringési értékek fokozódása, a vesében azok csökkenése követett. A legnagyobb pH csökkenés és laktátkoncentráció növekedés a suprarenalis csoportban volt kimutatható. A vörösvérsejt deformabilitási paraméterek romlása már az ischaemia végére, majd a reperfusio során szignifikáns mértékű volt. Ebben a kísérletben a vörösvérsejt deformabilitás nagyobb mértékű romlást mutatott, mint a vörösvérsejt aggregatio. Összességében a hemodinamikai és sav-bázis értékekben jelentkező eltérések sokkal kifejezettebbek voltak, mint a micro-rheológiai változások.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Németh N, Kiss F, Klárik Z, Tóth E, Mester A, Furka I, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2014;57:339-353.

### **7.1.5. Here ischaemia-reperfusio**

#### *Háttér, célkitűzés:*

A különböző szervek ischaemia-reperfúsiójának mikrokeringési és haemorheológiai hatásait vizsgálva foglalkoztunk a here károsodásával is. Az akut testicularis ischaemia leggyakrabban a funiculus spermaticus torsiója miatt (intra-, extravaginalis vagy mesorchialis típusok) jön létre.<sup>72,97,316</sup> A súlyos fájdalom mellett az ischaemia és a reperfusio károsíthatja a spermatogenezist, továbbá a vér-here gát sérülése által lokális keringészavarok mellett immunreakciót is generál nemcsak az ipsi-, hanem a contralateralis hereállomány károsodásához vezetve.<sup>109,152,199,241,246,267,306,313,314,315,328</sup>

A testicularis ischaemia-reperfusio mikrokeringési zavarainak haemorheológiai megközelítéséről kevés adat lelhető fel az irodalomban. Patkánykísérletben célul tűztük ki a kérdéskör vizsgálatát.

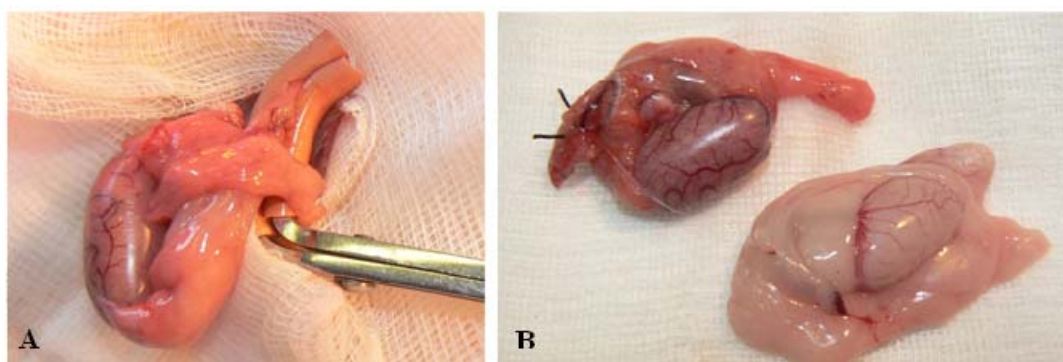
#### *Anyagok és módszerek:*

A kísérletbe (engedélyszám: 17/2008. DE MÁB) vont 14 felnőtt (7-8 hónapos) hím Sprague-Dawley patkányt ( $563 \pm 94,3$  g) random két csoportba soroltuk. Az Ischaemia-

Reperfusio csoportban (n=7) általános anaesthesiában (60 mg/kg Thiopenthal, i.p.) a scrotumot borotválás majd Betadine-os lemosás után a bal here felett mintegy 2 cm hosszú incisióval megnyitottuk. A bal here óvatosan antepositióra került és testhőmérsékletű fiziológiás sóoldattal átitatott steril textillel körbevontuk. A ductus deferens a spermaticus vascularúrával együtt atraumatikusan (kisméretű Blalock típusú érleszorító alkalmazásával) leszorításra került 30 percre (70. ábra, A). A jobb here intakt maradt. Az ischaemiát követően a mikrokeringési vizsgálatok elvégzése után repositio történt, majd 3/0-s Dexon-nal csomós öltésekkel rétegesen zártuk a sebet, majd a sebvonalat fertőtlenítettük. A Kontroll csoportban (n=7) csak anaesthesia és vérvételek történtek. Mindkét csoport állatai fájdalomcsillapítóként Flunixin-t kaptak (2,5 mg/kg, s.c.).

A laboratóriumi vizsgálatokhoz 0,2-0,3 ml vért vettünk a lateralis farokvéna 26 G-s tűvel való pungálásával (anticoagulans: 1,5 mg/ml K<sub>3</sub>-EDTA) az ischaemia előtt (alap), az ischaemiát követően (I-30), a reperfusio 60. percében és az 1. postoperativ nap reggelén. A mikrokeringést laser Doppleres szöveti áramlásmérővel a bal herén az ischaemia előtt és végén, valamint altatásban az 1. postoperativ napon mindkét herén mértük.

A here felszínére helyezett szondával ugyanekkor hőmérsékletmérés is történt. Az utolsó vértételt követően (altatásban) a scrotum megnyitásra került, majd a microcirculációs méréseket követően bilaterális orchidectomiát végeztünk szövettani vizsgálatok céljából (70. ábra, B). Az állatok túlaltatásra kerültek.

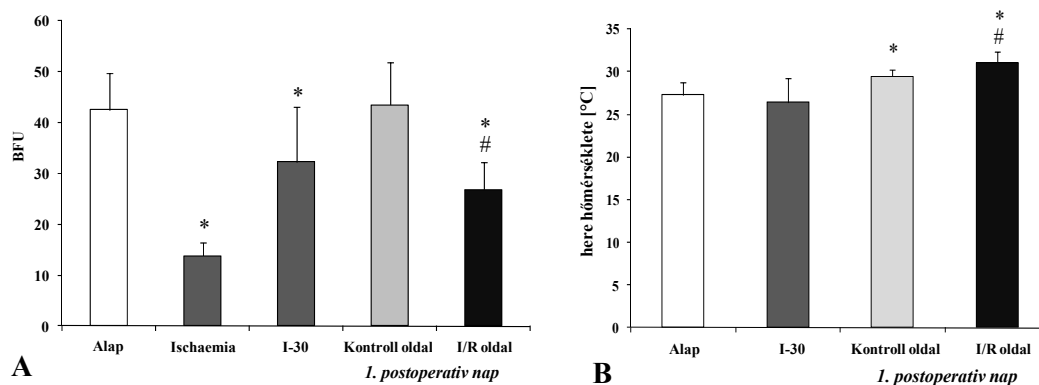


**70. ábra**

Az egyik oldali here ductus deferensének és ereinek együttes atraumatikus leszorítása (A). Az 1. postoperativ napon eltávolított I/R és ép oldali here jellemző makroszkópos képe (B).  
(saját tanszéki fotóanyag)

#### *Eredmények:*

A BFU értékek a leszorítás alatt lecsökkentek ( $p < 0,001$  vs. alap). Az ischaemiát követően és az 1. napon is még a kiindulási értékektől valamint az ép, jobb oldali here értékeihez képest is szignifikánsan elmaradtak ( $p < 0,001$ ) (71. ábra, A). Az ischaemiás here hőmérséklete csak kismértékben csökkent. Az 1. postoperativ napra azonban jelentősen megemelkedett az alaphoz ( $p = 0,002$ ) és az ellenoldali, intakt heréhez képest ( $p = 0,039$ ), annak ellenére, hogy ennek a testisnek a hőmérséklete is emelkedett az alapértékekhez képest ( $p = 0,02$ ) (71. ábra, B).

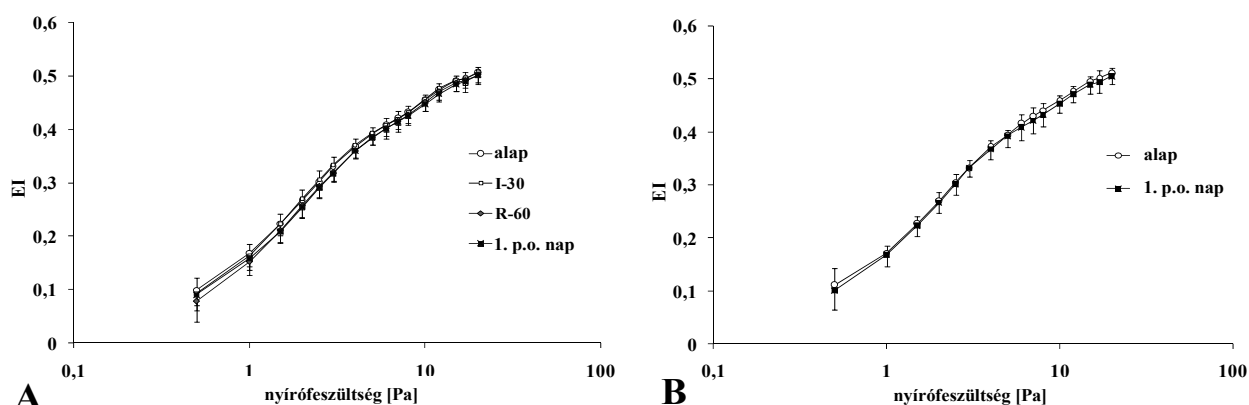


71. ábra

A mikrokeringést jellemző áramlási egység (blood flux unit, BFU) (A), valamint a here felszíni hőmérséklete (B).  
Alap = ischaemia előtt, I-30 = ischaemia vége  
átlag  $\pm$  S.D.; \*  $p < 0,05$  vs. Alap, #  $p < 0,05$  vs. kontroll oldal (ANOVA)

A fehérvérsejtszám az 1. napra szignifikáns mértékben megemelkedett a Kontroll csoporthoz képest ( $p=0,001$ ). A monocyta-granulocyta arány alapértékekkel szembeni növekedése már az ischaemiát követően kimutatható volt ( $p=0,018$ ), amely a reperfusio 60. percére ( $p<0,001$ ), majd az 1. napig fokozódott ( $p<0,001$ ). A thrombocyta szám is megemelkedett az 1. napra ( $p=0,002$  vs. alap,  $p<0,001$  vs. Kontroll csoport). A I/R csoport vörösvérsejtszám és a haematocrit változásai enyhe haemoconcentrációt jeleztek az 1. napra.

A 72. ábra az elongációs index adatokat mutatja a nyírófeszültség függvényében. A görbékéből kalkulált összehasonlító paramétereket a XIV. táblázat foglalja össze. Az alaphoz képest alacsonyabb elongációs index volt mérhető az I/R csoportban a reperfusio 60. percére (1 Pa-nál:  $p=0,028$ , 3 Pa-nál:  $p=0,048$ ). Az 1. napra az értékek alacsonyak maradtak ( $p=0,037$  vs. Kontroll). Az  $EI_{max}$  kismértékben csökkent, az  $SS_{1/2}$  értékek enyhe fokú emelkedést mutattak, de nem érték el a szignifikáns mértéket.



72. ábra

Az elongációs index (EI) adatok változása a nyírófeszültség függvényében az Ischaemia-Reperfúziós (A) és a Kontroll csoportban (B).  
Alap = ischaemia előtt, I-30 = ischaemia vége, p.o. = postoperativ, átlag  $\pm$  S.D.

**XIV. táblázat:** Az elongatiós index (EI) - nyírófeszültség (SS [Pa]) görbék összehasonlító adatai.

Paraméter	Alap	I-30	R-60	1. postoperatív nap
EI 3 Pa-nál	0,331 ± 0,017 0,331 ± 0,014	0,333 ± 0,016	0,318 ± 0,017 *	0,317 ± 0,014 # 0,331 ± 0,017
EI <sub>max</sub>	0,574 ± 0,022 0,572 ± 0,011	0,570 ± 0,019	0,575 ± 0,027	0,576 ± 0,022 0,572 ± 0,013
SS <sub>1/2</sub> [Pa]	2,42 ± 0,43 2,39 ± 0,25	2,71 ± 1,11	2,84 ± 0,74	2,63 ± 0,36 2,45 ± 0,53

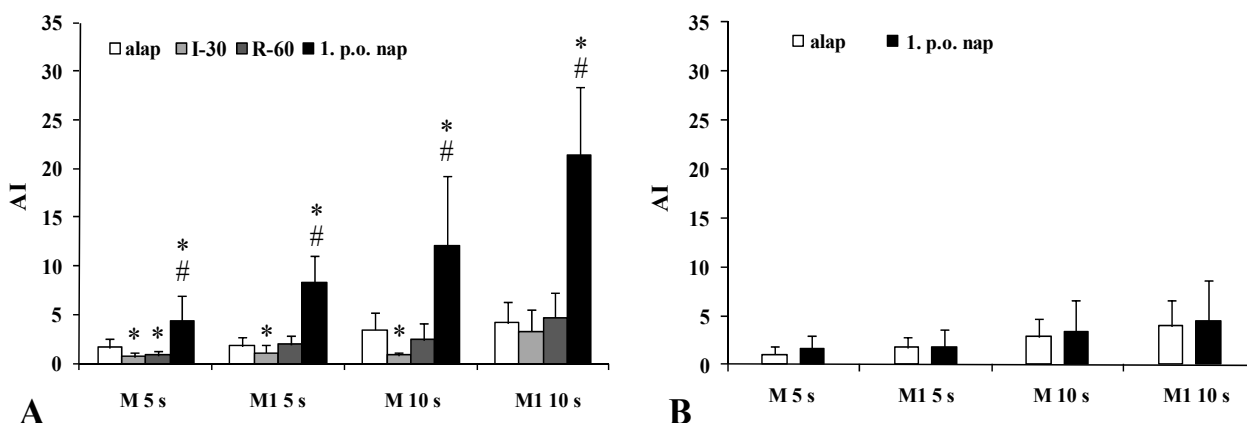
átlag ± S.D., a Kontroll csoport adatai *ferde betűvel* vannak jelölve.

Alap = ischaemia előtt, I-30 = a 30 perces ischaemia végén, R-60 = a reperfusio 60. percében

\* p<0,05 vs. Alap, # vs. Kontroll (ANOVA)

A vörösvérsejt aggregatio index paraméterei az ischaemia végén vett vérmintákban alacsonyabbak voltak az alapértékekhez képest (M 5 s: p=0,003, M1 5 s: p=0,004, M 10 s: p<0,001 vs. alap). A reperfusio 60. percére az értékek emelkedni kezdek (kivéve az M 5 s indexet), az 1. napra jelentősen magas értékeket elérve mindegyik aggregatiós index paraméter esetén (p<0,001 vs. alap és vs. Kontroll). A Kontroll csoport értékei gyakorlatilag változatlanok maradtak (73. ábra).

A szövettani vizsgálatok a here körüli szöveti rétegek és az epididymis közepes mértékű gyulladásos induratióját írták le.

**73. ábra**

Az aggregatiós index (AI) paraméterek (M 5 s, M1 5 s, M 10 s, M1 10 s) változásai az Ischaemia-Reperfúziós (A) és a Kontroll csoportban (B).

Alap = ischaemia előtt, I-30 = ischaemia vége, p.o. = postoperatív  
átlag ± S.D., \* p < 0,05 vs. Alap, # p < 0,05 vs. kontroll oldal (ANOVA)

#### Konklúzió:

Az adatok a mikrokeringési zavarokkal párhuzamosan a szisztémás vénás vérből is kimutatható micro-rheologiai eltérésekre hívják fel a figyelmet. Ebben a modellben a vörösvérsejt deformabilitás csak kismértékben romlott, az aggregatio azonban jelentősebb mértékben fokozódott.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Németh N, Kiss F, Klárik Z, Pető K, Ványolos E, Tóth L, Mikó I, Furka I, Clin Hemorheol Microcirc 2014;57:243-253.

### 7.1.6. Cerebralis hypoperfusio

#### *Háttér, célkitűzés:*

A lokális keringésdinamikai változások és a haemorheológiai paraméterek kapcsolatának egy másik aspektusát sertés modellen vizsgáltuk, a cerebralis hypoperfusio vonatkozásában.

Az agyi véráramlás meghatározásában az arteriás, vénás és intracraniális nyomás, a cerebralis erek tónusa és a keringő vér rheológiai tulajdonságai játszanak fő szerepet. Akut hemodinamikai változások (arteriás, vénás és a vénás sinusok oldalán), keringési shock, traumás agysérülés, cerebralis oedema, pulmonaris hypertensio, cerebralis vasoconstrictio (pl. hyperventillatio miatt kialakuló artériás hypocapnia következtében), metabolikus zavarok, gyulladásos és szabadgyökös károsodások a cerebralis perfúziót nagymértékben befolyásolhatják.<sup>44,83,164,175,209,274,279</sup>

Ebben a kísérletben vizsgálni kívántuk, hogy a különböző keringésdinamikai hatások milyen mértékben befolyásolják a cerebralis perfúziót és a haemorheológiai faktorokat.

#### *Anyagok és módszerek:*

A kísérletbe (engedélyszám: 6/2002. DE MÁB) 12 juvenilis (3 hónapos) hím és nőstény Durok/Cornwall sertést ( $32 \pm 2,04$  kg) vontunk be. Altatásban (premedikáció: 2 mg/kg azaperon, i.v.; indukció: 10 mg/kg ketamin, i.v.; fenntartás: 0,4 mg/kg/h midazolam + 0,2-0,4  $\mu$ g/kg/h sufentanil + 0,3 mg/kg/h pancuronium, i.v.) tracheostomia inferior készült a kontrollált lélegeztetéshez, majd a bal oldali arteria és vena femoralis kipreparálásra és kanülálásra került a vérnyomás, szívfrekvencia direkt meghatározására, folyadékbevitel és mintavételezés céljából. A koponya frontális régióján a bőr és a scalp lefejtése után három fűrt lyuk készült az os frontale-n, amelyeken keresztül kanülok és szenzorok (szöveti oxigén tenzió - Licox oxygen sensor system, GMS, Németország; thermodilútiós próba - QFlow 400 System, Hemedex Inc., USA; glükóz, laktát, piruvát meghatározására microdialysis katéter - CMA600 Microdialysis Analyzer, Svédország) kerültek bevezetésre, csontcementes tömítés mellett. A sinus sagittalis superior-ba kanült vezettünk be. A jobb hemispheriumba intracranialis nyomásmérő transzducer (Codman, Johnson&Johnson, USA), a sinus sagittalis superior-ba kanül került bevezetésre cerebrovenosus vér vétele céljából.

Nyugalmi periódust követően 30 perc hyperventillatio (HV,  $p_a\text{CO}_2=30$  és 20 Hgmm), majd norepinephrin adásával (5-10  $\mu$ g/kg/min) 30 perc arteriás hypertensio (HT, cerebralis perfúziós nyomás: CPP>160 Hgmm), ezt követően esmolol alkalmazásával (1-1,5 mg/kg/min) 60 perc hypotensio (HoT, CPP: ~30 Hgmm) következett protokoll szerint, 30-30 perces közbeiktatott stabilizációs szakaszokkal. A regionális cerebrális véráramlási adatok a hemodinamikai változásokat jól tükrözték (kiindulási érték:  $32,4 \pm 3,44$ , HV:  $18,8 \pm 4,21$ , HT:  $33,9 \pm 2,75$  és HoT:  $5,5 \pm 4,9$  ml/100g/min).

Minden szakasz elején és végén párhuzamosan vért vettünk a kanülált a. és v. femoralisból, valamint a sinus sagittalis superiorból. Meghatározásra kerültek a haematologiai paraméterek, a teljes vér és plazma viszkozitás, valamint filtrometriás módszerrel (5%-os szuszpenzió, 5 µm pórusátmérőjű filter) a vörösvérsejt deformabilitás. A kísérlet végén az állatok túlaltatásra kerültek.

#### Eredmények:

A vérviszkozitás egyik vérmintában sem változott számottevően a hyperventillációs szakasz végére. A hypertenziós szakasz végére kismértékben emelkedett mindhárom vérminta típusban, a hypotenziós szakasz végére az értékek az artériás és sinus mintákban csökkentek, a vénásban növekedtek. A haematocrit a vér viszkozitással azonos irányú változásokat mutatott, míg a plazma viszkozitás nem változott jelentősen a kísérlet során (XV. táblázat).

A vörösvérsejt deformabilitás filtrometriás módszerrel történt meghatározásakor azt találtuk, hogy a relatív sejt-tranzitidő (RCTT) szignifikánsan megnyúlt a hyperventillációs szakasz végére a szisztémás vénás vérmintákban ( $p=0,041$  vs. artériás alap,  $p=0,044$  vs. vénás kiindulási érték,  $p=0,024$  vs. artéria,  $p=0,005$  vs. sinus). A hypertenziós szakaszban az artériás vérmintákban volt emelkedettebb az RCTT ( $p=0,028$  vs. kiindulási érték). A hypotenziós szakaszban a sinus sagittalis superiorból nyert vérmintákban volt mérhető az alapértékekhez képest több mint kétszeres RCTT emelkedés ( $p=0,038$  vs. artériás alap,  $p=0,005$  vs. sinus kiindulási érték), jelentősen romló deformabilitásra utalva (74. ábra). Ennek hátterében ugyanakkor a felgyülemlett laktát ( $2,28 \pm 0,17$  mmol/l vs. kiindulási  $1,08 \pm 0,21$  mmol/l) és pH csökkenés ( $7,321 \pm 0,025$  vs. kiindulási  $7,377 \pm 0,005$ ) lehetett az oka.

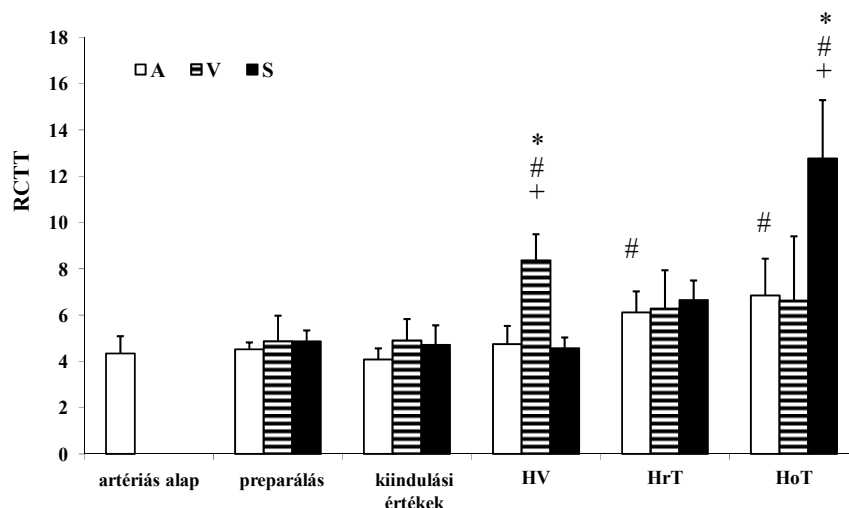
**XV. táblázat:** A teljes vér viszkozitás (TVV), a plazma viszkozitás (PV), a haematocrit (Htc) és a 40%-os haematocritra korrigált vérviszkozitás ( $TVV_{40\%}$ )<sup>207</sup> értékei a kísérlet különböző szakaszaiban.

Para-méter	Minta	Artériás alap	Preparálás után	Kiindulási értékek	HV	HrT	HoT
TVV [mPas]	A	$3,6 \pm 0,51$	$3,7 \pm 0,89$	$3,96 \pm 1,25$	$3,89 \pm 1,2$	$4,79 \pm 1,26$	$3,67 \pm 1,24$
	V		$3,45 \pm 0,59$	$3,4 \pm 0,72$	$3,39 \pm 0,85$	$3,85 \pm 0,47$	$4,18 \pm 1,72$
	S		$3,79 \pm 0,52$	$4,02 \pm 1,46$	$3,72 \pm 1,11$	$4,15 \pm 0,64$	$3,32 \pm 1,02$
PV [mPas]	A	$1,57 \pm 0,2$	$1,47 \pm 0,13$	$1,4 \pm 0,09$	$1,51 \pm 0,16$	$1,43 \pm 0,06$	$1,47 \pm 0,06$
	V		$1,52 \pm 0,27$	$1,32 \pm 0,06$	$1,46 \pm 0,18$	$1,35 \pm 0,1$	$1,4 \pm 0,29$
	S		$1,47 \pm 0,18$	$1,45 \pm 0,16$	$1,36 \pm 0,09$	$1,39 \pm 0,14$	$1,45 \pm 0,25$
Htc [%]	A	$32,07 \pm 5,09$	$30,33 \pm 4,5$	$31,69 \pm 3,87$	$31,29 \pm 4,39$	$38,5 \pm 4,05$ *#	$28,27 \pm 2,99$
	V		$33,4 \pm 5,52$	$30,66 \pm 5,02$	$30,26 \pm 4,38$	$37,81 \pm 5,71$	$27,46 \pm 1,72$
	S		$31,62 \pm 5,55$	$29,97 \pm 4,5$	$31,31 \pm 3,17$	$37,3 \pm 6,05$ *#	$29,38 \pm 2,91$
$TVV_{40\%}$ [mPas]	A	$4,26 \pm 0,5$	$4,36 \pm 0,54$	$4,37 \pm 0,78$	$4,26 \pm 1,19$	$5,54 \pm 1,2$ *#+	$4,27 \pm 0,95$
	V		$4,11 \pm 0,44$	$4,32 \pm 0,99$	$3,84 \pm 0,4$	$4,17 \pm 0,69$	$3,57 \pm 0,1$
	S		$4,29 \pm 0,66$	$3,83 \pm 0,43$	$3,96 \pm 0,63$	$4,24 \pm 0,42$	$3,7 \pm 0,36$ *

átlag  $\pm$  S.D., \* $p < 0,05$  vs. artériás alap, # $p < 0,05$  vs. kiindulási értékek, + $p < 0,05$  vs. arteria, vena vagy sinus

A = artériás vérminta, V = vénás vérminta, S = sinus sagittalis superior vérminta

HV = hyperventillatio végén, HrT = hypertensio végén, HoT = hypotensio végén



**74. ábra**

A vörösvérsejt deformabilitást jellemző relatív sejt-tranzitidő (RCTT) értékei a kísérlet különböző szakaszaiban.

A = artériás vérminta, V = vénás vérminta, S = sinus sagittalis superior vérminta

HV = hyperventillatio végén, HrT = hypertensio végén, HoT = hypotensio végén

átlag  $\pm$  S.E., \* $p < 0,05$  vs. artériás alap, # $p < 0,05$  vs. kiindulási értékek,

+ $p < 0,05$  vs. artéria, véna vagy sinus

#### Összegzés, konklúzió:

A hyperventillációval, artériás hyper- vagy hypotensióval előidézett cerebrális hemodinamikai változások hatással vannak a keringő vér rheologiai tulajdonságaira. Az eredményekből az látszott, hogy nemcsak az ischaemia, hanem a hypoperfusio is ronthat a haemorheologiai paramétereken, elsősorban a vörösvérsejt deformabilitáson a felhalmozódó metabolitok és lokális acidózis hatására.

Az ischaemia-reperfusio és a hypoperfusio hatására létrejövő lokális és szisztémás haemorheologiai változások pontosabb megismeréséhez és megértéséhez azonban további vizsgálatok szükségesek. Érzékeny mérőmódszerek és a szöveti mikrokeringés lehetőség szerinti párhuzamos vizsgálata segíthetnek abban, hogy pontosabb képet kaphassunk az *in vivo* rheologiai viszonyokról.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Németh N, Soukup J, Menzel M, Henze D, Clausen T, Rieger A, Holz C, Scharf A, Hanisch F, Furka I, Mikó I, Clin Hemorheol Microcirc 2006;35:59-65.

## 7.2. Vascularis beavatkozások haemorheológiai hatásainak vizsgálatai

Ahogy az a 2.5. fejezetben ismertetésre került, a hemodinamikai változások, a nyírófeszültség nagysága és expozíciós ideje, a vér oxigenizáltsági állapota és a metabolikus tényezők a vér micro-rheológiai tulajdonságait befolyásolhatják. Mindezek alapján felmerül a kérdés, hogy az érrendszeren végzett különböző sebészeti beavatkozások, mint ér-anastomosis készítés, ér-graft beültetés, mennyiben befolyásolják a vörösvérsejt deformabilitást és aggregációt. A gondolatot megfordítva, vajon lehet-e ezen paraméterek vizsgálatával következtetni az anastomosis illetve az ér-graft funcionális állapotára?

A témakörben két tanulmányt végeztünk: (1) mikrosebészeti módszerekkel kialakított új arterio-venosus shunt modell hemodinamikai, microcirculációs és micro-rheológiai tulajdonságait elemeztük patkányban, (2) perifériás érszakasz művi grafftal való pótlásának véráramlástan hatását követtük beagle kutyákon.

### 7.2.1. Művi arterio-venosus shunt jelenléte

*Háttér, célkitűzés:*

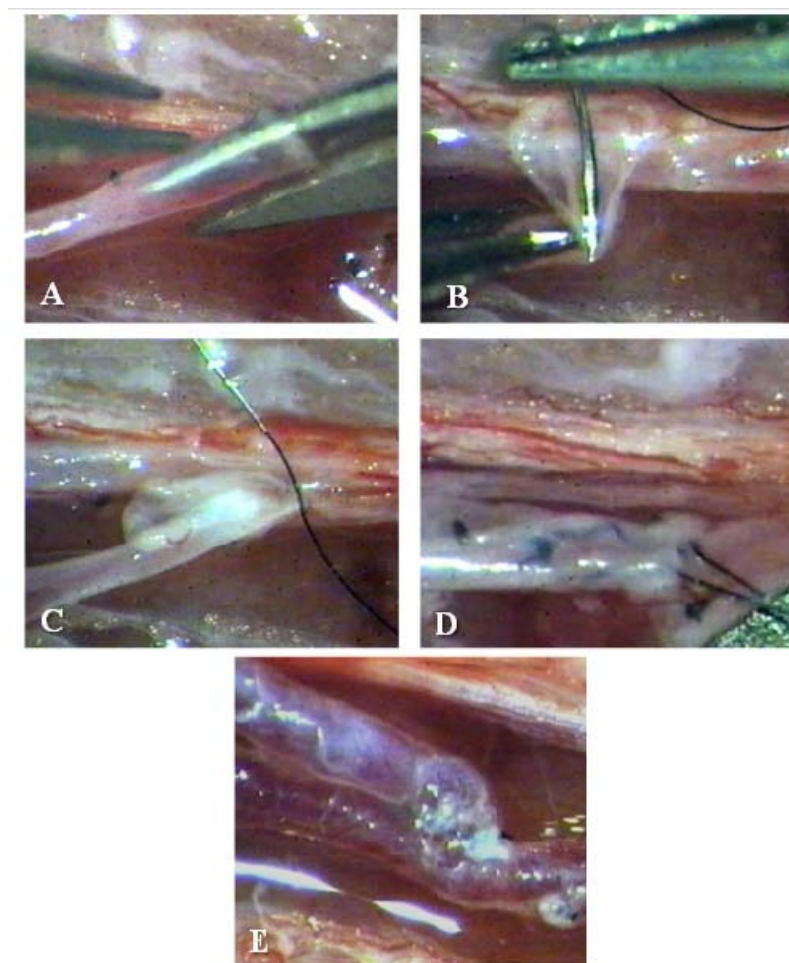
A jól működő, perifériás erek között elkészített érett művi arterio-venosus (AV) shunt fontos szerepet játszik uraemiás betegek haemodialysisénél az érpályához való megfelelő, rendszeres hozzáférés biztosításával. Az anastomosisok készítésénél a szövődmények elkerülése, a shunt hosszútávú nyitvamaradása szempontjából is a sebészi biztonságra való törekvésnek óriási szerepe van.<sup>99,122,203,245,259</sup> A shunt-ök geometriájának, áramlási viszonyainak, histomorphológiai sajátosságainak tanulmányozására különböző állatkísérletes modellek alkalmasak az egértől a sertésig. A shunt jelenlétéből éséréséből adódó akut/krónikus hemodinamikai összefüggései a micro-rheológiai paraméterek lokális-szisztémás változásaival azonban kevésbé ismertek.

Egy új shunt modell kialakítását tűztük ki célul patkányok saphena erei között, amely a teljes keringést nem terheli meg, mint más modellek (pl. femoralis arterio-venosus shunt), de alkalmas a lokális véráramlástan és az érintett végtag microcirculációs paramétereinek tanulmányozására a shunt érése során.

*Anyagok és módszerek:*

Kísérleteinket (engedélyszám: 37/2007., 6/2008. DE MÁB) 22 hím és nőstény CD outbred patkányon ( $336,8 \pm 71,75$  g) végeztük az alábbi kísérleti csoportokban. I. Kontroll csoport (n=6): műtét nem történt, normál kontrollként szolgáló csoport. A mintavételek és a lenti vizsgálatok történtek. II. AV shunt csoport (n=16): altatásban (60 mg/kg, Thiopenthal, i.p.) a bal femoralis régió medialis területe feltárássra került, majd a v. saphena medialis és az a. saphena között end-to-side anastomosis került kialakításra mikrosebészeti módszerekkel, 10/0-s monofilament polyamid varróanyaggal (Black Nylon) (75. ábra). Az átjárhatóság ellenőrzése után a sebzés 5/0-s polyglycolsav varróanyaggal (Dexon) történt. A jobb oldali végtag intakt maradt a további vizsgálatokra.





**75. ábra**

Patkányban a v. saphena medialis és az a. saphena között mikrosebészeti módszerekkel létrehozott end-to-side arterio-venosus shunt készítésének főbb lépései: a v. saphena medialis distalis lekötése és átvágása után a szár pozícionálása és a szájadék elkészítéséhez annak behasítása (A), az end-to-side anastomosis készítés klasszikus lépési, a saroköltések behelyezése, majd tovafutó varrattal az első és hátsó fal megvarrása (B, C, D). Az elkészített shunt-öt az E ábra mutatja.  
(tanszéki fotóanyag, nagyítás: 40x)

A postoperatív napokon az állatok mozgása és a mancs színe rendszeres megfigyelésre került. A shunt-ök érését biztosító időszakot követően a postoperatív 8-12. hét között újra elaltattuk az állatokat. A műtött és nem műtött végtag, valamint a kontroll csoport végtagjainak mikrokeringését laser Doppler scanner-rel vizsgáltuk (Perimed, Periscan PIM II Laser Doppler Perfusion Imager, Perimed AB, Svédország). A jobb oldali arteria carotis communis preparálásra és kanülálásra került az artériás középnyomás és szívfrekvencia mérése céljából (Haemosys rendszer, Experimetria Kft.). Az ép és a műtött saphena erek áramlását Transonic T206 készülékkel (Transonic Systems Inc., USA; probe: 1RB2759) mértük (véráramlás ml/min-ben kifejezve).

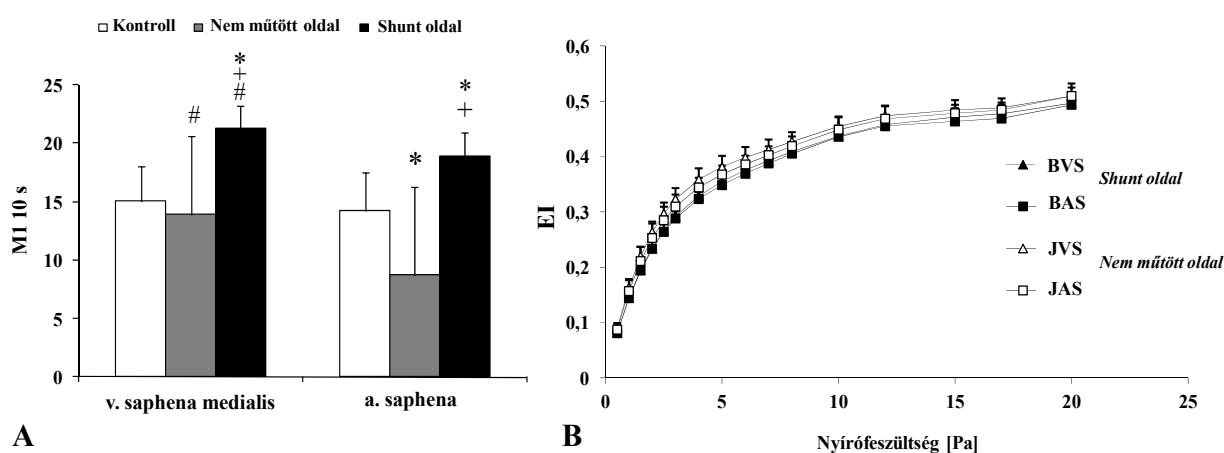
A méréseket követően 0,2-0,3 ml-nyi vért vettünk (26 G-s tű, anticoagulans:  $K_3$ -EDTA, 1,5 mg/ml) a v. saphena medialis-ból és az a. saphena-ból a shunt területén és az ellenoldali ép végtagon egyaránt, majd az állatok exterminálásra kerültek. A shunt és az ellenoldali erek szövettani vizsgálatok céljából kerültek kimetszésre.

### Eredmények:

A laser Doppleres mérések során a vizsgált bőrfelszín régió (region of interest, ROI) BFU értékeiből adódó összesített számadatok a műtött végtag combján kismértékű növekedést mutattak (shunt oldal:  $2,09 \pm 0,15$ , nem műtött oldal:  $2,06 \pm 0,21$ , Kontroll:  $1,96 \pm 0,06$ ). A mancsok területén azonban alacsonyabb értékek ( $1,26 \pm 0,08$ ), mutatkoztak a nem műtött oldalhoz ( $1,49 \pm 0,18$ ) és a Kontroll csoporthoz képest ( $1,46 \pm 0,07$ ).

A Kontroll és az AV shunt csoport között nem volt különbség az artériás középnyomás ( $129,2 \pm 15,5$  és  $139,1 \pm 17,8$  Hgmm) és a szívfrekvencia között ( $403,1 \pm 97,8$  és  $399,7 \pm 102,2$   $\text{min}^{-1}$ ). A későbbi szövettani vizsgálatokkal is igazolt érett shunt-ök artériás és vénás szárainak véráramlási értékei a nem műtött oldali erekhez képest nagyobbak voltak ( $p < 0,001$  és  $p = 0,006$ ), de a Kontroll csoport értékeitől elmaradtak. Egyúttal az áramlási értékek arterio-venosus aránya is csökkent.

A micro-rheologiai paraméterek elemzésekor azt találtuk, hogy a vörösvérsejt aggregációs index (M1 10 s) a shunt-ök régiójából vett vérmintákban magasabb volt a nem műtött oldali és a Kontroll csoport AV adataihoz képest (76. ábra, A). A vörösvérsejt deformabilitás vizsgálatokor (slit flow ektacytometer) az ép oldalon mutatkozó kismértékű, de jól kivehető arterio-venosus különbség a shunt oldalról vett vérmintákban elmosódott, alacsonyabb elongációs index értékeket mutatva mind az artériás, mind a vénás vérmintákban (76. ábra, B).



76. ábra

A vörösvérsejt aggregációs index (M1 10 s) (A) és a deformabilitást jellemző, nyírófeszültség függvényében ábrázolt elongációs index (EI) adatok a Kontroll és az AV shunt csoport műtött (bal) és nem műtött (jobb) oldali v. saphena medialis-ából és a. saphena-ból vett vérmintákban.

BVS, JVS = bal illetve jobb oldali v. saphena medialis, BAS, JAS = bal illetve jobb oldali a. saphena  
 átlag  $\pm$  S.D., \* $p < 0,05$  vs. Kontroll csoport, # $p < 0,05$  vs. arteria, + $p < 0,05$  vs. nem műtött oldal

### Konklúzió:

Az arteria saphena és a vena saphena medialis között mikrosebészeti módszerekkel létrehozott end-to-side anastomosiok utánkövetéses vizsgálata során is jól követhető volt az arterio-venosus micro-rheologiai paraméterek változása, kiegyenlítődése.

A fejezet alapjául szolgáló közlemény: Hevér T, Németh N, Bráth E, Tóth L, Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, Szaszko J, Drimba L, Peitl B, Csiki Z, Mikó I, Furka I, Microsurgery 2010;30:649-656.

### 7.2.2. Vascularis graft jelenléte

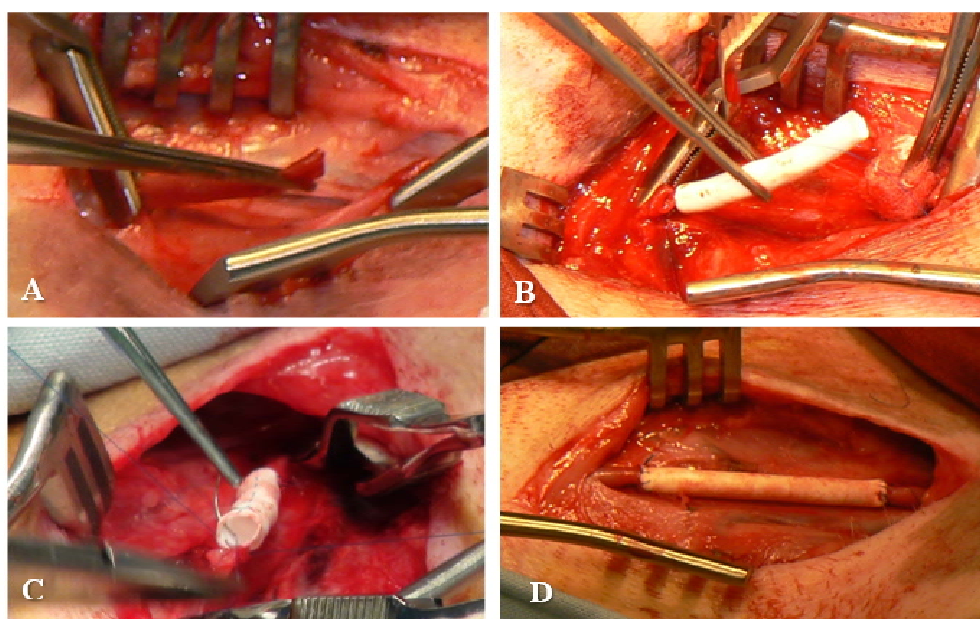
#### *Háttér, célkitűzés:*

A nyitott műtétek közül a bypass operációk, graft beültetések még mindig nagy jelentőséggel bírnak az érsebészeti gyakorlatban. A korai postoperatív időszak azonban mindig kritikus.<sup>103,269,307</sup> Különböző szintetikus ér-graftok beültetése kapcsán a bio- és haemocompatibilitás mellett,<sup>219</sup> a keringő vörösvérsejtekre ható mechanikus stressz is alapvető fontosságú haemorheológiai nézőpontot jelent, főleg a kis átmérőjű graftok esetén.<sup>103</sup> A korai thrombosis problémája a kis átmérőjű művi graftok esetén még mindig nagy kihívást jelent.<sup>103,269,307</sup> Nem teljes mértékben tisztázott még, hogy a megváltozott véráramlási tulajdonságok mikor érnek el olyan mértéket, amely már thromboticus szövődmény kialakulásához vezethet.

Kísérletes modellünk kialakításakor feltételeztük, hogy a micro-rheológiai paraméterek, beleértve a vörösvérsejt deformabilitás- és a membrán (mechanikus) stabilitási jellemzőket, romlást mutathatnak a korai postoperatív időszakban, és jelentőségük lehet a lehetséges komplikációk előrejelzésében illetve kimutathatóságában.

#### *Anyagok és módszerek:*

A kísérleteket hím és nőstény beagle kutyákon ( $10,8 \pm 1,3$  kg) végeztük (engedélyszám: 20/2011. DE MÁB). A Kontroll csoportban ( $n=4$ ) 2 órás altatás történt (10 mg/kg ketamin + 0,1 mg/kg xylazin, i.m.). Az Érgraft csoportban ( $n=5$ ) altatásban feltárássra került a bal oldali arteria femoralis, amelyből 3,5 cm-es excisiót végeztünk, helyére azonos hosszúságú, 3 mm átmérőjű politetrafluoretilén (PTFE) graft került beültetésre end-to-end anastomosisokkal, 6/0-s polypropylen varróanyag használatával (77. ábra).



**77. ábra**

Az a. femoralis 3,5 cm-es szakaszának excisióját követően (A) azonos hosszúságú, 3 mm külső átmérőjű PTFE érgraft pozicionálása és tovafutó varratokkal való end-to-end anastomizálása (B, C, D) (saját tanszéki fotóanyag)

Az érkirekesztés időtartama  $25 \pm 3,1$  perc volt. Anticoaguláns kezelésként a műtét alatt intravénásan 1000 NE Na-heparint, az 1. és a 3. postoperatív napokon pedig subcutan 500 NE enoxaparin (Clexane) alkalmaztunk mindkét csoportban. Fájdalomcsillapításként 1 ml/10 kg metamizolt használtunk (1g/2ml Algopyrin, i.m.), közvetlenül az operáció után és az 1. postoperatív napon.

A műtétet követően, valamint az 1., 3., 5., 7. és 14. postoperatív napon mindkét hátsó végtag bőrhőmérsékletét mértük, az állatok mozgását-járását figyeltük, a vena cephalica-ból vérvétel történt haematologiai, haemostaseologiai és komplett haemorheologiai vizsgálatokra.

#### *Eredmények:*

A kéthetes követési időszak alatt sem korai, sem késői műtéti komplikációt nem tapasztaltunk: az állatok mozgása zavartalan volt, végtagkeringési problémára utaló jelet nem láttunk, a műtött és a nem műtött végtag bőrhőmérsékletének aránya nem változott.

A haematologiai paraméterek az akut fázis történéseit tükrözték az első postoperatív héten megemelkedett fehérvérsejt- és thrombocyta számmal. A haematocrit és a vörösvérsejtszám csökkent a követési periódus során mindkét csoportban.

Az aktivált partialis thromboplastin idő a 3. postoperatív napon ( $p=0,048$  vs. alap) és a 7. napon ( $p=0,012$ ) megemelkedett az Érgraft csoportban. A fibrinogén koncentráció szintén az Érgraft csoportban növekedett a korai postoperatív időszakban. Az 1. napi magasabb értékek után fokozatosan csökkenés volt megfigyelhető a második hét végéig.

A XVI. táblázat a syllectometriás vörösvérsejt aggregációs paramétereket foglalja össze.

**XVI. táblázat.** Vörösvérsejt aggregációs index (AI), az amplitúdó (Amp) és az aggregációs félidő ( $t_{1/2}$  [s]) értékeinek változásai a Kontroll és az Érgraft csoportokban.

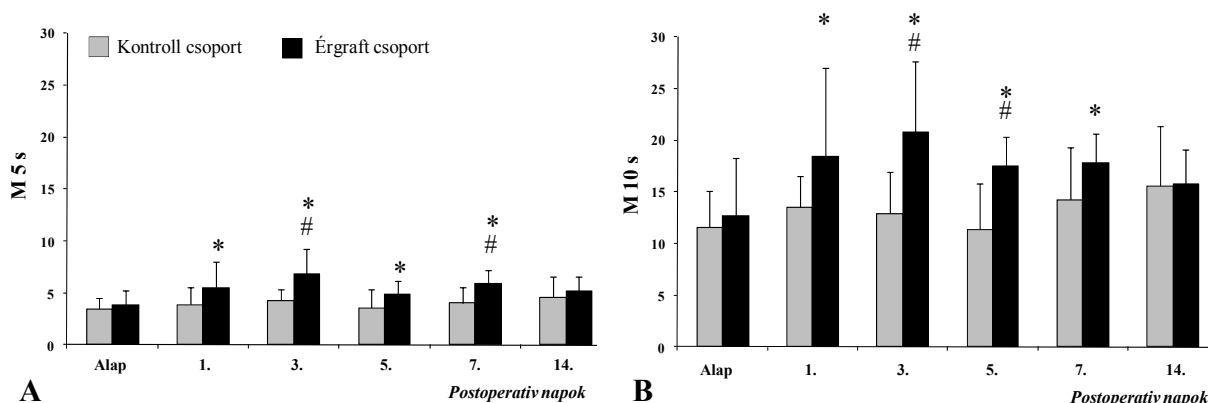
Paraméter	Csoport	Alap	Postoperatív napok				
			1.	3.	5.	7.	14.
AI	Kontroll	51,35 $\pm 2,45$	48,81 $\pm 9,68$	50,11 $\pm 4,02$	45,2 $\pm 11,34$	49,49 $\pm 3,27$	50,61 $\pm 5,49$
	Érgraft	46,27 $\pm 12,09$	55,13 $\pm 12,17$	57,63 $\pm 5,57$	52,21 $\pm 4,04$	49,51 $\pm 8,12$	48,38 $\pm 5,64$
Amp	Kontroll	23,82 $\pm 2,62$	20,13 $\pm 5,08$	24,75 $\pm 2,61$	23,71 $\pm 4,05$	23,94 $\pm 1,57$	23,28 $\pm 2,99$
	Érgraft	28,71 $\pm 2,09$	24,8 $\pm 5,17$	29,65 $\pm 2,34$	27,88 $\pm 2,07$	30,42 $\pm 3,16 \#$	25,08 $\pm 5,01$
$t_{1/2}$ [s]	Kontroll	3,8 $\pm 0,4$	4,46 $\pm 2,07$	4,0 $\pm 0,71$	3,92 $\pm 0,64$	4,07 $\pm 0,64$	3,97 $\pm 0,91$
	Érgraft	4,11 $\pm 2,15$	3,55 $\pm 2,05$	2,92 $\pm 0,63$	3,67 $\pm 0,62$	4,26 $\pm 1,38$	4,35 $\pm 1,03$

átlag  $\pm$  S.D., #  $p < 0,05$  vs. Kontroll

Az Érgraft csoport aggregációs index (AI%) értékei kismértékben nőttek az 1., 3. és az 5. postoperatív napokon az Amp értékek párhuzamos emelkedésével (a 7. napon  $p=0,008$  vs. Kontroll). Az 5. napig a  $t_{1/2}$  értékek gyorsabb kinetikájú aggregációra utaltak az Érgraft csoportban (XVI. táblázat). Az Érgraft csoport fénytranszmissziós elven mért M 5 s és M 10 s

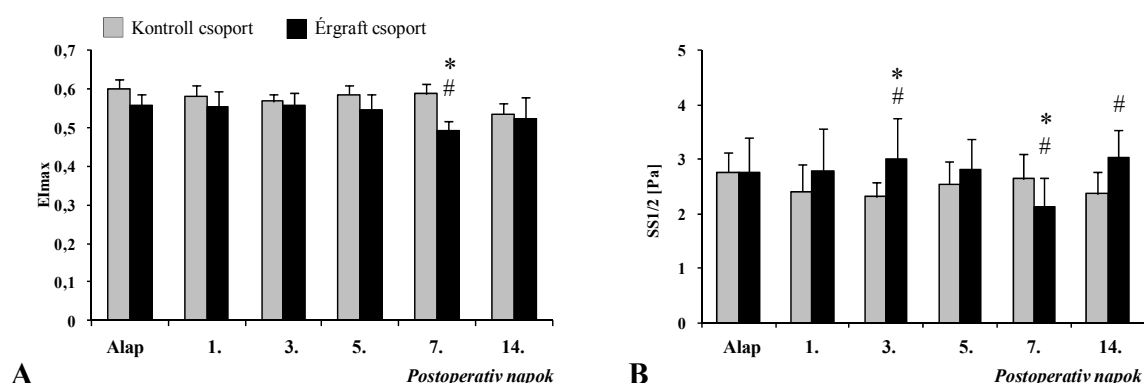
aggregációs index értékei szignifikáns mértékű emelkedést mutattak az 1. postoperatív héten. Az M 10 s index értékek mutatták a legnagyobb mértékű különbséget a két csoport között (az 1. napon  $p=0,029$  vs. alap; a 3. napon:  $p<0,001$  vs. alap és vs. Kontroll; az 5. napon:  $p=0,006$  vs. alap és  $p<0,001$  vs., Kontroll; és a 7. napon:  $p=0,006$  vs. alap) (78. ábra).

A hagyományos ektacytometriás mérések során a kalkulált  $EI_{max}$  folyamatos csökkenést mutatott, legnagyobb mértékben az Érgraft csoportban, ahol a 7. postoperatív napon mutatta a legalacsonyabb értékeket ( $p<0,001$  vs. alap;  $p<0,001$  vs. Kontroll). Az  $SS_{1/2}$  [Pa] értékek szignifikánsan magasabbak voltak az Érgraft csoportban a 3. napon ( $p=0,029$  vs. Kontroll), majd a 7. napra csökkentek ( $p=0,025$  vs. alap és  $p=0,042$  vs. Kontroll), a 14. napra újra megemelkedtek ( $p=0,011$  vs. Kontroll). A deformabilitás romlással általában  $EI_{max}$  csökkenés és  $SS_{1/2}$  emelkedés társul. Amennyiben mindkét érték csökken, az jelezheti az elongációs index-nyírófeszültség görbék morphologiai változását. Így összességében azonban az adatok vörösvérsejt deformabilitás romlásra utalnak (79. ábra).



**78. ábra**

A vörösvérsejt aggregációs index M 5 s (A) és M 10 s (B) értékek változása a postoperatív időszakban a Kontroll és az Érgraft csoport állataiban.  
 átlag  $\pm$  S.D., \* $p<0,05$  vs. alap, # $p<0,05$  vs. Kontroll csoport (ANOVA)

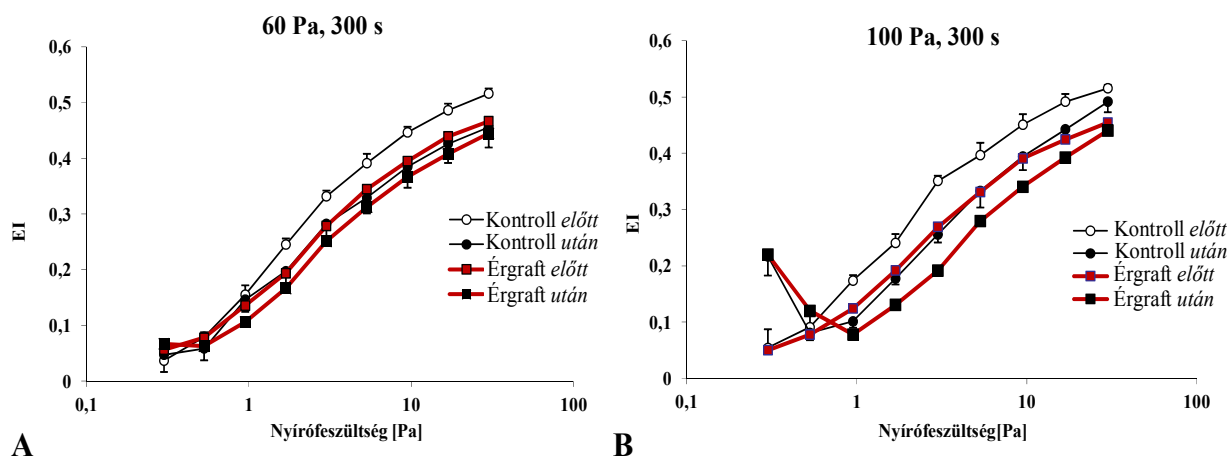


**79. ábra**

A maximális elongációs index ( $EI_{max}$ ) (A) és ennek feléhez tartozó nyírófeszültség érték ( $SS_{1/2}$  [Pa]) (B) változása a postoperatív napokon a Kontroll és az Érgraft csoportban.  
 átlag  $\pm$  S.D., \* $p<0,05$  vs. alap, #  $p<0,05$  vs. Kontroll (ANOVA)

Az ozmotikus gradiens ektacytometriás (osmoscan) mérések során nyert paraméterek közül a maximális elongatiós index alacsonyabb volt az Érgraft csoportban, ahogy az a hagyományos ektacytometriás mérések eredményeiben is látszott. A minimális elongatiós index értékek kismértékben, de nem szignifikánsan voltak magasabbak az 1., 3., 5. és 14. napokon az Érgraft csoportban. Ezzel párhuzamosan a vonatkozó ozmolalitás értékek a Kontroll csoporthoz viszonyítva hasonlóak, kismértékben alacsonyabbak vagy éppen magasabbak voltak, különösebb összefüggés nélkül. Az Érgraft csoport Area parameter (az elongatiós index-ozmolalitás görbe alatti területéből kalkulált változó) a legalacsonyabb értékeket a 3-7. napokon mutatta (a 3. napon  $p=0,005$ , az 5. napon  $p=0,017$  és a 7. napon  $p=0,061$  vs. Kontroll; ugyanekkor  $p=0,056$  vs. alap).

A membránstabilitás vizsgálatához kétféle protokollt használtunk, 60 Pa nyírófeszültség 300 másodpercig, illetve 100 Pa nyírófeszültség 300 másodpercig. Az alkalmazott mechanikus stressz előtt és után elvégzett normál ektacytometriás mérések eredményei kerültek összehasonlításra. A mechanikus stressz után az elongatiós index értékek minden esetben szignifikánsan alacsonyabbak voltak a stressz előtti állapothoz képest ( $p<0,001$ , a 0,95-30 Pa nyírófeszültség tartományban). Ez a különbség sokkal kifejezettebb volt, amikor a 100 Pa-os protokollt alkalmaztuk. A membránstabilitás vizsgálatok az Érgraft csoportban egyrészt alacsonyabb deformabilitási profilt, másrészt a mechanikus stressz hatására létrejövő beszűkülő deformabilitás-változási képességet jeleztek. Az ektacytometriás méréseknél a legnagyobb változásokat a 7. napon láthattuk. A mechanikus stabilitás eredményeit tovább elemezve a legszembetűnőbb mértékű különbségeket is ezen a napon láttuk (80. ábra).



**80. ábra**

A 7. postoperatív napon végzett vörösvérsejt membránstabilitás teszt eredményei. Elongatiós index (EI) értékek a nyírófeszültség függvényében a mechanikus stressz alkalmazása előtt és után, kétféle nyírófeszültség-expozíciós idő kombinációt alkalmazva a vérmintákon:

60 Pa 300 s ideig (A) és 100 Pa 300 s ideig (B).

átlag  $\pm$  S.D., a 1-30 Pa nyírófeszültség tartományban:  $p<0,001$  előtte vs. utána,  $p<0,001$  Kontroll vs. Érgraft

### *Összegzés, konklúzió:*

A kísérletben kimutattuk, hogy unilateralisan az arteria femoralis érszakasz 3,5 cm hosszúságú, 3 mm átmérőjű PTFE grafftal való pótlásakor, az első postoperatív héten nagyrészt lezajlanak a haematologiai, vörösvérsejt aggregációs és coagulációs időparaméterek változásai. Az Érgraft csoportban a vörösvérsejt aggregatio az 1-3. napon volt jelentősen fokozott, míg a vörösvérsejt deformabilitás a 3., az 5. és főként a 7. postoperatív napon mutatott szignifikáns mértékű romlást. A vörösvérsejt mechanikus stabilitási teszt ezeken a napokon jól kimutatható különbségeket adott az Érgraft csoportban a sejtek mechanikus stresszel szembeni csökkent tűrőképességét mutatva, együttesen az eleve rosszabb deformabilitási értékekkel. A 7. nap során mért legrosszabb deformabilitási paraméterek egybeeshettek a graftot kritikusan szűkítő, illetve elzáró longitudinális thrombus kialakulásával, amelyet az utólag végzett szövettani vizsgálatok megerősítettek.

A graft elzáródásához vezető folyamatok összetettek: a kis átmérőjű, az érfalnál merevebb falú cső haemodinamikai hatása, felszínének tulajdonságai, haemocompatibilitási mértéke, a véralvadási kaskádrendszer aktiválódása és a vérsejtek mechanikus károsodása játszanak szerepet.<sup>103,156,219,269,307</sup> A lokális haemodinamikai változások kialakulása hátterében az is feltételezhető, hogy a merevebb graftot magába foglaló érszakasz a műtét után elmozdulhat, csavarodhat, megtörhet az állat mindennapi mozgása során. Azonban nem láttunk végtag keringési zavarra utaló jelet. Nem látszott duzzadás, nem jelzett az állat fájdalmat, a járása zavartalan volt és a bőrhőmérséklet a műtött és nem műtött végtagon közel azonos volt. A szűkülő vagy már elzáródott graft keringését a gluteális régió felőli érösszeköttetések részben kompenzálhatták. Feltételezhető, hogy a vérrög-képződés már a korai posztoperatív napokban megkezdődhetett és a 7. napra érhetett el azt a mértéket, amely már micro-rheologiai változásokhoz vezetett.

Ez felhívhatja a figyelmet a vörösvérsejt deformabilitás és vörösvérsejt mechanikus stabilitás mérésének fontosságára az érgraft beültetését követő korai postoperatív napok monitorozásakor.

A fejezet alapjául szolgáló közlemények: (1) Tóth Cs, Kiss F, Klárik Z, Gergely E, Tóth E, Pető K, Ványolos E, Mikó I, Németh N, Korea-Aust Rheol J 2014;26(2):209-215.; (2) Tóth Cs, Klárik Z, Kiss F, Tóth E, Hargitai Z, Németh N, Acta Cir Bras 2014;29(5):320-327.

## 8. MEGBESZÉLÉS

A haemorheológiai paraméterek klinikai és kísérletes vizsgálatai számos kórképben és pathophysiológiai folyamat kapcsán nyújtanak információt a vér alakos és plazmatikus komponensei áramlási tulajdonságairól a keringés különböző szakaszain. Az elmúlt évtizedek során a meghatározásukra alkalmas mérőműszerek látványos fejlődésen mentek keresztül. A viszkozimetria különböző formái, majd a filtrometria, a fénytranszmissziós aggregometria és az ektacytometria megjelenésével a klinikai haemorheológia nagyléptékű fejlődése valósulhatott meg.<sup>34,69,136,137,138,276,287</sup>

A mérésekhez megfelelő standardokra van szükség, hogy az eredmények megbízhatóan kerülhessenek értékelésre, összehasonlításra. Az első haemorheológiai nemzetközi mérés technikai útmutató 1986-ban jelent meg „*Guidelines for measurement of blood viscosity and erythrocyte deformability*” címmel.<sup>147</sup> 2005-ben a Magyar Haemorheológiai Társaság égisze alatt is megjelent egy magyar nyelvű útmutató a hazánkban elérhető műszerekre vonatkozó módszertani ajánlasként.<sup>33</sup> Az 1986 óta eltelt időben számos új műszer jelent meg, több mérés technikai tanulmány is készült, ezért 2007-ben egy új nemzetközi munkacsoport alakult (Committee for Guidelines of Assessment of Hemorheological Parameters), amelynek Magyarországról én lehettem a meghívott tagja. A munkacsoport üléseket, workshop-okat rendezett, további kiegészítő összehasonlító mérés technikai tanulmányokat végzett, majd az International Society for Clinical Hemorheology és a European Society for Clinical Hemorheology and Microcirculation égisze alatt elkészítette az új haemorheológiai laboratóriumi mérés technikai összefoglaló cikket „*New guidelines for hemorheological laboratory techniques*” címmel, amely 2009-ben jelent meg.<sup>17</sup>

A kísérletes haemorheológia azonban nemcsak humán vérmintákat használ fel, hanem az adott kérdéskör megválaszolására a laborállat-tudományi elveknek megfelelően kiválasztott kísérleti/laboratórium állatfajok vérmintáit vizsgálja. Az 5. és 6. fejezetekben ismertetett vizsgálatok eredményei alapján is látszik, hogy a kísérletes haemorheológia kihívásai igen összetettek, és számos kérdés még nem tisztázott. Az eredmények megfelelő értékeléséhez, összehasonlíthatóságához, extrapolálhatóságához pedig ezek elengedhetlenek.

Az összehasonlító és mérés technikai vizsgálatok tapasztalatai a kísérletes haemorheológiai kutatások megbízhatóbb méréseit és eredményeinek pontosabb értékelhetőségét segíthetik. Az eredmények alapján a kísérletes haemorheológiában számos szempont és tényező azonosítható, amelyek a humán vérminták rheológiai méréseire szóló ajánlásoktól<sup>17</sup> eltérnek:

- A kísérleti/laboratóriumi állatok haemorheológiai paraméterei jelentősen különbözhetnek egymástól, amely fajspecifikus illetve inter-species különbségek nem tekinthetőek konzekvensnek, kimutathatóságuk metodika-függő.
- A kísérleti/laboratóriumi állatok haemorheológiai paraméterei nemi különbséget mutatnak, amelyek nem azonos irányúak az emberben adódó különbségekkel.



- Az adott metodika szerinti szükséges vérminta és az adott kísérleti állattól egyszeri vagy ismételt vérvételekkel levehető vérmennyiség közötti diszkrepancia (főleg rágcslók esetén) a mérés technika lehetőség szerinti módosítását igényelheti, amelyekhez standardizációs, összehasonlító vizsgálatok mindig szükségesek.
- A vérvételeknél szem előtt kell tartani, hogy a micro-rheológiai paraméterek arterio-venosus illetve aorto-porto-cavalis különbségeket mutathatnak.
- Általános mérés technikai szempontok közül: az alkalmazott anticoagulans (pl. K<sub>3</sub>-EDTA, Na-heparin) és a minta tárolási ideje és hőmérséklete (*“in vitro aging”*), valamint a centrifugálás micro-rheológiai paraméterekre kifejtett hatása különbözhet a fajok között.
- Módszerspecifikus mérés technikai szempontok közül: jelentős érzékenységbeli különbség adódhat a sejtméret-pórusméret arány révén filtrometriás méréseknél, az alkalmazott szuszpenziós oldat eltérő viszkozitása miatt ektacytometriás méréseknél, az applikált nyírófeszültségtől függően az osmoscan teszt, és a mechanikus stressz nagysága és időtartama révén a membránstabilitási teszt során.

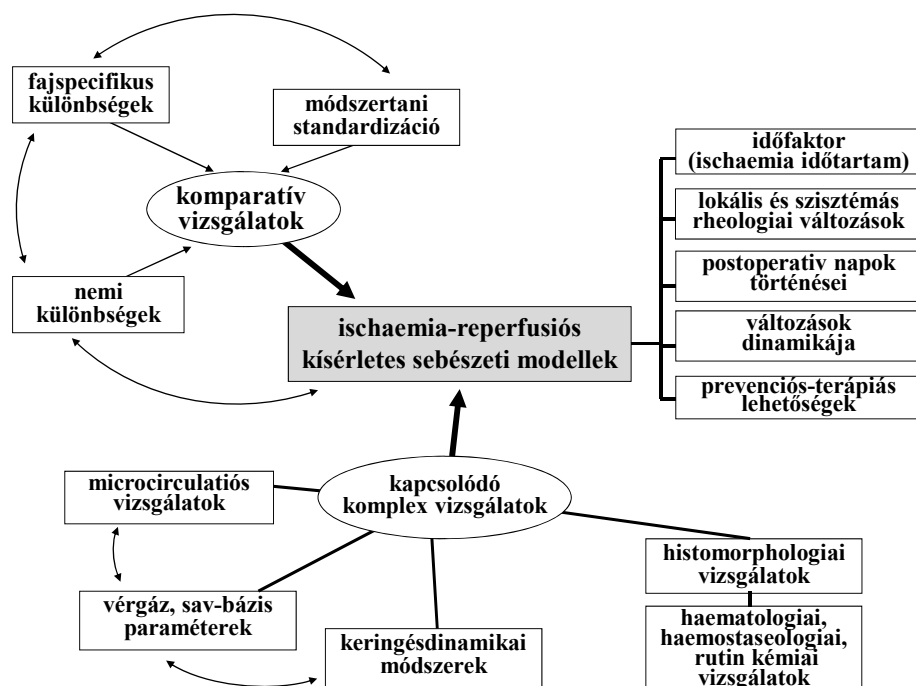
Az eredmények felhívhatják a figyelmet a különböző állatfajok vérmintáinak haemorheológiai méréseinél a humán laboratórium standardoktól sok esetben eltérő szempontokra és buktatókra. A haemorheológiai, és kiemelten a micro-rheológiai paraméterek (vörösvérsejt deformabilitás, vörösvérsejt aggregatio) összehasonlító vizsgálatai adatokat szolgáltathatnak a faji- és nemi különbségek, valamint a mintavételi, mintakezelési, mintatárolási, mintaelőkészítési standardok kialakításához, figyelembe véve az adott mérőműszerek érzékenységét, módszerspecifikus vonatkozásait is.

A humán laboratóriumi haemorheológiai mérés technikai útmutatókhoz hasonló, állatkísérletekre és haemorheológiai kísérletes sebészeti kutatásokra vonatkozó ajánlás nem ismert. Az eltérések, hasonlóságok, speciális kihívások és az eddig felhalmozódott eredmények és tapasztalatok alátámasztják egy experimentális haemorheológiai mérés technikai útmutató előkészítését.

A jól értékelhető kísérletes haemorheológiai eredmények hozzájárulhatnak számos pathophysiologiai folyamat és kórkép során kialakulható microcirculációs zavarok jobb megértéséhez, prognosztizálásához és a terápiás lehetőségeinek vizsgálatához.

A haemorheológiai összehasonlító vizsgálatok, a fajok közti általános és nemi különbségek feltárása, a szükség szerinti módszertani adaptációs munkák jelenthetik a megbízható haemorheológiai mérések hátterét adott kísérletes modellhez (81. ábra). Az I/R haemorheológiai és mikrokeringési hatása máig nem tisztázott teljesen. A már visszafordíthatatlan károsodáshoz vezető ischaemia időtartama adott szerv, szerv-rendszer tekintetében pontosan még nem azonosítható. A reperfusio körülményei (hőmérséklet, intermittálás), a változások mértéke, a lokális és szisztémás eltérések különbségei, kiegyenlítődésük dinamikája részben nyitott kérdés még (81. ábra). A preventív és terápiás

lehetőségek szempontjából mindezek pontosabb megismerése, feltárása nagy jelentőséggel bír. Bár a pathomechanizmus számos eleme és tényezője azonosítható (2.5. fejezet), azok egymást potenciózó hatásáról, a micro-rheologiai változások irreverzibilitásának határáról, a változások *in vivo* jelentőségéről kevés és ellentmondásos adat áll rendelkezésre.



**81. ábra**

Az ischaemia-reperfüziós kísérletes sebészeti kutatások fő haemorheológiai kérdéskörei, és a megválaszolásukat segítő vizsgálatok

Kísérleteink eredményeit tekintve is összetett a kép, hiszen nem minden esetben találtunk egy-egy tényezőt (pl. vér sav-bázis paraméterek) elsődleges meghatározó jellegűnek, míg más modellben igen. A vörösvérsejt deformabilitási és aggregációs változások együttesen, hasonló nagyságrendben, de egymástól eltérő mértékben is megjelenhetnek különböző szervek ischaemia-reperfüziója során. A XVII. táblázat különböző időtartamú és lokalizációjú ischaemia-reperfüzio haemorheológiai főbb eredményeit, megállapításait foglalja össze kísérletes modelleken.

A haemorheológiai paraméterek vizsgálata azonban önmagában nem elegendő egy olyan összetett történéssorozat, mint az ischaemia-reperfüzio tanulmányozásához. Keringésdinamikai, microcirculációs, haematológiai, haemostaseológiai, rutin kémiai, enzimológiai és hisztomorfológiai vizsgálatok segítenek a megértésben (81. ábra). Egy állatmodellen –függően a laboratóriumi állat fajától és figyelembe véve a vonatkozó laborállat-tudományi szempontokat– nem minden esetben lehet ennyi vizsgálati módszert alkalmazni, már csak a szükséges mintamennyiségek, illetve adott esetben az invazivitás mértéke, valamint a követéses vizsgálatok tekintetében sem.

**XVII. táblázat:** Ischaemia-reperfusiós kísérletes modelljeink főbb eredményei, megállapításai

Szerv/régió	Faj	Az ischaemia időtartama	Főbb eredmények, megfigyelések	Hivatkozás vagy fejezet
Hátsó végtag	patkány	1 óra	A vörösvérsejt deformabilitás 1-2. postoperativ napra bekövetkező szignifikáns mértékű romlása kivédhető allopurinolos előkezeléssel.	238
	patkány	1 óra	A vörösvérsejt deformabilitás romlása nemi különbségeket mutat a korai postoperativ napok során, amelyet az előzetes gonadectomia módosít, kifejezettebb postischaemiás változásokat előidézve.	7.1.1.
	patkány	1 óra	A postischaemiás microcirculációs romlás kimutatására kidolgozott laser Doppler-es teszttel a korai változások intraoperativ vizsgálhatóak.	237
	patkány	2 óra	A csökkenő pH és lokális haemoconcentratio a reperfusio első órájában arterio-venosus különbségeket mutathat.	7.1.
	kutya	3 óra	Szignifikánsan romló vörösvérsejt deformabilitás mutatható ki a 2-3. postoperativ napokon. Haemoconcentratio az 1. napra, emelkedő fibrinogén koncentráció és plazma viszkozitás az 1-5. napon jelentkezik. A haemorheológiai és haemostaseológiai változások lokális hűtés alkalmazása mellett kifejezettebbek.	239, 305
Vese	kutya	45 perc	A reperfusio első 30 percében mutatózó vörösvérsejt deformabilitás rosszabbodás nem, de az 1-2. postoperativ napra jelentkező romlás allopurinol prae-ischaemiás adásával kivédhető.	250
Máj	kutya	3x15 perc	Pringle (Báron) manőver során a lokális haematocrit, a vörösvérsejt aggregatio és fehérvérsejtszám jelentősen nő a portalis vérmintákban a leszorítás háromszori ismétlése után.	118
Vékonybél	patkány	30 perc	A portalis és cavalis vénás vérmintákban romlott vörösvérsejt deformabilitás volt kimutatható a reperfusio első 30 percében. A vörösvérsejt aggregatio a portalis mintákban fokozottabb volt.	7.1.3.
	kutya	30 perc	A vörösvérsejt deformabilitás a 3. postoperativ napra rosszabbodott.	49
Musculus latissimus dorsi lebeny	kutya	1 óra	A kontroll oldali izomlebennyel összehasonlítva a lokális haematocrit a reperfusio első órájában fokozatosan nőtt a lebeny vénájában (v. thoracodorsalis), míg a vörösvérsejt aggregatio fokozódás a reperfusio első 15 percében volt kifejezettebb.	7.1.2.
Testis	patkány	30 perc	A vörösvérsejt deformabilitás kismértékben romlott, az aggregatio azonban jelentős mértékben fokozódott az 1. postoperativ napra.	7.1.5.
Supra- vagy infrarenalis aorta abdominalis leszorítás érintett szervei	patkány	1 óra	A vörösvérsejt deformabilitás romlás bár jól kimutatható volt a reperfusio első órájában, a metabolikus (laktát koncentráció emelkedés és a pH csökkenés) és keringésdinamikai változások a micro-rheológiainál nagyobb mértékűek voltak.	7.1.4.

Az eredmények értékelésénél figyelembe kell venni azt a tényt is, hogy a jelenleg elérhető haemorheológiai vizsgálómódszerek *ex vivo* vérmintákon, és sok esetben szélsőséges mikrokörnyezetben vizsgálják a sejteket (pufferek, magas viszkozitású makromolekula oldatok, extrafiziológiás nyírófeszültség értékek). Így a valódi *in vivo* micro-rheológiai történések rejtve vannak még. Az intravitális videomikroszkópos módszerek is az áramlási sebességet, a capillarisok állapotát, akár a benne lévő aggregátumok azonosításával, vagy jelölt sejtek (ez sem élettani már) eloszlási dinamikáját képesek vizsgálni. Jelenleg nem ismert olyan vizsgálómódszer, amely *in vivo*, valós időben és adott keringési területen lokálisan képes lenne mérni a vörösvérsejtek deformabilitásának valamelyik eddig ismert vagy akár új paraméterét, illetve elemezni tudná az *in vivo* aggregatiót az *ex vivo* vizsgálatok részletességével. Az ilyen műszer technikai kihívást jelent, nemcsak az esetlegesen új módszer kialakítása, hanem a keringési rendszerbe való bejuttatása és pozicionálása kapcsán is (invazivitás mértéke, érátmérő limitáció, vérsejtek mechanikus károsodása, haemocompatibilitás). A jövő talán új módszereket is hoz, amelyekhez újabb mérés technikai szempontok, standardizációs és összehasonlíthatósági kérdések adódnak majd.

## 10. ÚJ MEGÁLLAPÍTÁSOK, GYAKORLATI HASZNOSÍTHATÓSÁG

Kutatómunkánk során haemorheológiai mérés-technikai összehasonlító és módszertani standardizációs vizsgálatokat, humán vérminták és különböző kísérleti/labortóriumai állatfajok haemorheológiai komparatív vizsgálatait végeztünk, és ezen tapasztalatok szerzésével majd alkalmazásával különböző szervek, szervrendszerek ischaemia-reperfúziója során kialakuló véráramlási és mikrokeringési változásait elemeztünk kísérletes sebészeti és mikrosebészeti modelleken.

Az eredmények alapján az egyes témakörök főbb megállapításai az alábbiakban fogalmazhatóak meg.

### ***Haemorheológiai módszertani összehasonlító vizsgálatok, mérés-technikai standardizáció:***

1. Az állatkísérletek során a megfelelő vérvételi lokalizáció megválasztásához összehasonlító adatokat szolgáltatunk, kimutatva CD patkányoknál a vörösvérsejt deformabilitás és a vörösvérsejt aggregatio jelentős arterio-venosus, illetve aorto-porto-cavalis micro-rheológiai alap különbségeket. A legalacsonyabb elongációs index értékeket az artériás vérmintákban mértük, a legmagasabbat a szisztémás vérmintákban. A portális vérminták értékei e kettő közé estek. Az aggregációs index alacsonyabb volt a szisztémás vénás vérmintákban, mint az artériásban és a portális mintákban. Az adatok a mintavételi hely standardizálásának fontosságára hívhatják fel a figyelmet, és hozzájárulhatnak az ischaemia-reperfúzió, illetve különféle arterio-venosus és porto-cavalis shunt-ök készítése révén kialakuló rheológiai eltérések jobb megértéséhez.
2. A vörösvérsejt deformabilitás ektacyometriás (slit flow) meghatározása kapcsán először mutattuk ki, hogy a mintavételnél alkalmazott anticoagulánsok ( $K_3$ -EDTA, Na-heparin) mérési eredményekre kifejtett hatása különbözhet a laboratóriumi állatfajokban. CD patkányok esetén nem találtunk különbséget, beagle kutyák heparinnal anticoagulált vérmintáiban azonban szignifikánsan alacsonyabb elongációs index értékeket mértünk.
3. Adatokat szolgáltatunk CD patkányok és beagle kutyák vérmintáinak szobahőmérsékleten vagy hűtéssel történő tárolása során bekövetkező micro-rheológiai változások mértékéről. Először mutattuk ki patkány vérminta szobahőmérsékleten való tárolása során jelentkező bifázisos jellegű vörösvérsejt aggregációs index csökkenést és a látszólagos „normalizálódást”. Ajánlható, hogy kutya és patkány vérmintáknál a deformabilitási méréseket 4-6 órán belül el kell végezni, de a legjobb 2 órán belül. Az aggregációs méréseket patkány vérmintákon lehetőleg közvetlenül a vérvételt követően el kell végezni. Humán vérminták deformabilitás értékei 6 órán, az aggregációs mérések szobahőmérsékleten 4 órán belül stabilak. Az aggregációs mérések ideje hűtéssel mintegy 12 óráig prolongálható, deformabilitás méréseknél 6 órán túl már romlásra kell számítani.
4. Centrifugálás micro-rheológiai hatásait vizsgálva azt találtuk, hogy az 500 g, 1000 g vagy 1500 g erővel 10 percig 15 °C-on végzett centrifugálás hatására a vörösvérsejt deformabilitási és ozmotikus gradiens ektacyometriás paraméterek, valamint a membránstabilitás (100 Pa nyírófeszültség 5 perces alkalmazása után) nem változik

jelentősen patkány, kutya, sertés és emberi vérmintákban. A vörösvérsejt aggregációban azonban különböző mértékű és irányú változások várhatóak. Patkány és kutya vörösvérsejt aggregációs index értékei az alkalmazott  $g$  erő növelésével csökkennek, a sertések értékei már 500  $g$ -nél jelentősen megemelkednek, míg a humán vörösvérsejtek értékei stabilak maradnak.

5. A vörösvérsejt deformabilitás filtrometriás meghatározásához módszertani adaptációt és standardizációs vizsgálatokat végeztünk a kismennyiségű vérminta (0,5 ml) felhasználási lehetőségének megítélésére. A sejtméret-pórusméret arány tekintetében adatokat szolgáltatunk a módszer érzékenységének meghatározásához. Először mutattuk ki a módszerben rejlő vörösvérsejt méret- és haematocrit-függő torzító hatást, amelyhez matematikai analízist végeztünk a biztonságosan értékelhető eredményeket nyújtó sejtméret-pórusméret arány meghatározásához.
6. Kimutattuk, hogy az ektacytometriás mérések során alkalmazható, különböző viszkozitású PVP oldatok használata jelentősen befolyásolhatja a mért deformabilitási értékeket. Egyes állatfajok (kutya, patkány) vérmintáin a mérések érzékenysége azonos viszkozitású oldatban is eltérő lehet.
7. Az ozmotikus gradiens ektacytometria (osmoscan) módszertani összehasonlító vizsgálatában patkány, kutya, sertés és humán vérmintákon elemeztük az alkalmazott nyírófeszültség hatását a kapott eredményekre. Az osmoscan adatok 20 vagy 30 Pa alkalmazása mellett nem térnek el szignifikánsan egymástól, 20 Pa alatt a paraméterek közel lineárisan csökkennek a nyírófeszültség függvényében, de különböző meredekséggel a vizsgált fajok vérmintáiban. 3 Pa nyírófeszültség alatt a mérések egyre nagyobb mértékben válnak instabillá. Az elongációs index – ozmolalitás görbékben rejlő információtartalom jobb kiaknázása érdekében új, a vörösvérsejt deformabilitás változást nagyobb érzékenységgel jelző kalkulált paramétereket tudunk alkalmazni: a minimális és maximális EI abszolút és relatív különbsége ( $\Delta EI$ ,  $rEI$ ), a hozzátartozó ozmolalitás értékek ( $\Delta O$ ,  $rO$ ), valamint ezek egymáshoz viszonyított arányszámait ( $\Delta EI/\Delta O$  and  $rEI/rO$ ).

***Faji- és nemi haemorheológiai különbségek vizsgálatai:***

8. A faji különbségek haemorheológiai vizsgálata során kimutattuk, hogy CD patkányoknál jobb vörösvérsejt deformálhatóság és alacsonyabb vörösvérsejt aggregációs készség mérhető jelentősen magasabb vér viszkozitás értékekkel, mint beagle kutyaénál. E két állatfajban a haematocrit/viszkozitás arány összehasonlításában először mutattuk ki az „optimális haematocrit” értékeket különböző sebesség-gradiens mellett.
9. A vörösvérsejt deformabilitás mérések adatainak összevetésével a vizsgált fajok között az alábbi relációt adhattuk meg:  $EI_{max}$  sertés < patkány < ember < kutya < egér,  $SS_{1/2}$  sertés < egér ~ patkány < ember < kutya. Először mutattuk ki, hogy a vörösvérsejt membránstabilitásban jelentős faji különbség mutatkozik az alkalmazott mechanikus stressz nagyságától és expozíciós idejétől függően. Kimutattuk, hogy a mechanikus

stressz a közeg ozmolalitásától függően javítja (200 mOsm/kg-nál) vagy rontja (250-300 mOsm/kg-nál) a deformabilitást. Ennek mértéke szintén faji különbségeket mutat: patkány és sertés vérmintákban kifejezetten javult a deformabilitás alacsony ozmolalitású közegben mérve.

10. A vizsgált speciestek ozmotikus gradiens ektacytometriás paramétereinek összehasonlításában a legszembetűnőbb különbséget a sertésvérminták elongatiós index – ozmolalitás görbéinek jobbra tolódása, azaz magasabb ozmolalitás tartományban való elhelyezkedése jelentette. A maximális elongatiós indexhez tartozó ozmolalitás értéke jóval 300 mOsm/kg felett volt. Inbred egereknél is 300 mOsm/kg feletti értékeket mérhettünk a legmagasabb elongatiós indexnél. Ugyanakkor az egerek elongatiós index értékei magasabbak voltak a sertésekénél, de mindkettőnek jóval magasabb volt az O (EI max) értéke patkánnyal, kutyával vagy emberrel való összehasonlításban.
11. A vörösvérsejt aggregatio tekintetében a dinamikus paramétereket is figyelembe véve elmondható, hogy a patkányban a leggyorsabb és legnagyobb mértékű az erythrocyta aggregatio. Egérben jóval lassabban megy végbe a folyamat, míg a kutya, a sertés a vizsgált paraméterek nagyságrendje tekintetében az emberrel komparabilis.
12. Folyamatosan bővülő laboratórium-specifikus adatbázist hoztunk létre a nemi különbségek haemorheologiai vizsgálatára különböző laboratóriumi állatfajok vonatkozásában. Először mutattuk ki, hogy a vörösvérsejt deformabilitás CD patkányoknál a nőstényekben jobb, magasabb aggregatiós index értékekkel. Beagle kutyáknál a hímek rendelkeznek jobb vörösvérsejt deformabilitási adatokkal, de fokozottabb vörösvérsejt aggregatiós készséggel.
13. A gonadectomia haemorheologiai hatásait vizsgálva először mutathattuk ki, hogy a micro-rheologiai paraméterek eltérő mértékben változnak hím és nőstény Sprague-Dawley patkányokban. Az oestrogen szint csökkenése nagyobb arányú romlást okozott a vörösvérsejt deformabilitásban és aggregációban, mint a testosteron szint csökkenése.

***Az ischaemia-reperfusio haemorheologiai és microcirculációs vonatkozásai:***

14. A vörösvérsejt deformabilitás és vörösvérsejt aggregatio jelentős mértékű lokális változásait mutathattuk ki végtagi-, vékonybél-, izomlebeny- és here ischaemia-reperfusio során, valamint cerebralis hypoperfusio alatt CD patkány-, beagle kutya- és sertés modelleken. A változások nagysága függött az ischaemia időtartamától, a keringésből kirekesztett régió anatómiai jellemzőitől, valamint a lokális metabolikus változások mértékétől. Kísérletes modelljeinken kívül az irodalomban erre vonatkozóan kevés adat ismert.
15. Először mutattuk ki, hogy a végtagi ischaemia-reperfusio hatására létrejövő vörösvérsejt deformabilitásban és vörösvérsejt aggregációban bekövetkező változások mértéke különbözik hím és nőstény Sprague-Dawley patkányokon, mely különbségek eltérő mértékűek gonadectomiát követően.
16. A supra- és infrarenalis szintű aorta abdominalis időleges leszorítás hatását vizsgálva a legmarkánsabb keringésdinamikai változások a suprarenalis csoportban mutatkoztak a

reperfusio alatt, amelyet a vékonybél felszínén a mikrokeringési értékek fokozódása, a vesében azok csökkenése követett. A legnagyobb pH csökkenés és laktát koncentráció-növekedés a suprarenalis csoportban volt kimutatható. A vörösvérsejt deformabilitási paraméterek romlása már az ischaemia végére, majd a reperfusio során szignifikáns mértékű volt. Ebben a kísérletben a vörösvérsejt deformabilitás nagyobb mértékű romlást mutatott, mint a vörösvérsejt aggregatio. Összességében a hemodinamikai és sav-bázis értékekben jelentkező eltérések sokkal kifejezettebbek voltak, mint a micro-rheológiai változások.

17. Az arteria saphena és a vena saphena medialis között mikrosebészeti módszerekkel létrehozott end-to-side anastomosisok követéses vizsgálata során kimutattuk az arterio-venosus micro-rheológiai paraméterek változásának kiegyenlítődesét patkányban.
18. Kéthetes követéses vizsgálat során kimutattuk, hogy az arteria femoralis érszakasz 3,5 cm hosszúságú, 3 mm átmérőjű PTFE grafftal való pótlásakor, az első postoperatív héten nagyrészt lezajlanak a haematológiai, vörösvérsejt aggregációs és coagulációs időparaméterek szignifikáns változásai beagle kutyaiban. A vörösvérsejt aggregatio az 1-3. napon volt jelentősen fokozott, a vörösvérsejt deformabilitás szignifikáns mértékű romlást a 3., az 5. és főként a 7. postoperatív napon mutatott. A vörösvérsejt mechanikus stabilitási teszt ezeken a napokon jól kimutatható különbségeket mutatott: az Érgraft csoportban a deformabilitás kisebb mértékben csökkent a membránstabilitás teszt során, amely a sejtek mechanikus stresszel szembeni csökkent tűrőképességét tükrözheti, együttesen az eleve rosszabb deformabilitási értékekkel. A 7. nap során mért legrosszabb deformabilitási paraméterek egybeeshettek a graftot kritikusan szűkítő, illetve elzáró thrombus kialakulásával, amelyet az utólag végzett szövettani vizsgálatok megerősítettek. Ez felhívhatja a figyelmet a vörösvérsejt deformabilitás és vörösvérsejt mechanikus stabilitás mérésének fontosságára az érgraft beültetését követő korai postoperatív napok monitorozásakor. Ezért a részletes micro-rheológiai vizsgálatok ajánlottak lehetnek a különböző méretű és geometriájú graftok követéses vizsgálataiban.

Összességében, a sebészeti, mikrosebészeti ischaemia-reperfúziós állatkísérletes modelleken a megbízható, jól összehasonlítható eredmények biztosítása érdekében a bemutatott méréstechnikai standardizációs és összehasonlító haemorheológiai vizsgálatok hasznosítható adatokat szolgáltathatnak. Az ischaemia-reperfúziós kísérletek eredményei hozzájárulhatnak a klinikum számára is fontossággal bíró lokális-szisztémás rheológiai és mikrokeringési elváltozások jobb megértéséhez, a prevenciós és terápiás lehetőségek optimalizálásához, bővítéséhez.



## 11. IRODALOMJEGYZÉK

### 11.1. Hivatkozott közlemények

1. Aird WC. Discovery of the cardiovascular system: from Galen to William Harvey. *J Thromb Haemostas* 2011;9(Suppl 1):118–129.
2. Alanio-Bréchet C, Schischmanoff PO, Fénéant-Thibault M, Cynober T, Tchernia G, Delaunay J, Garçon L. Association between myeloid malignancies and acquired deficit in protein 4.1R: a retrospective analysis of six patients. *Am J Hematol* 2008;83:275–278.
3. Alexy T, Wenby RB, Pais E, Goldstein LJ, Hogenauer W, Meiselman HJ. An automated tube-type blood viscometer: validation studies. *Biorheology* 2005;42:237–247.
4. Ames A, Wright RL, Kowada M, Thurston JM, Majno G. Cerebral ischemia – the no reflow phenomenon. *Am J Pathol* 1968;52:437–453.
5. Anagnostopoulos PV, Shepard AD, Pipinos II, Raman SBK, Chaudhry PA, Mishima T, Morita H, Suzuki G. Hemostatic alterations associated with supraceliac aortic cross-clamping. *J Vasc Surg* 2002;35:100–108.
6. Anaya-Prado R, Toledo-Pereyra LH, Lentsch AB, Ward PA. Ischemia/reperfusion injury. *J Surg Res* 2002;105:248–258.
7. Araki K, Rifkind JM. The rate of osmotic hemolysis: a relationship with membrane bilayer fluidity. *Biochim Biophys Acta* 1981;645:81–90.
8. Armstrong JK, Wenby RB, Meiselman HJ, Fisher TC. The hydrodynamic radii of macromolecules and their effect on red blood cell aggregation. *Biophys J* 2004;87:4259–4270.
9. Aydogan S, Yapislar H, Artis S, Aydogan B. Impaired erythrocytes deformability in H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-induced oxidative stress: protective effect of L-carnosine. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;39:93–98.
10. Azarov I, Huang KT, Basu S, Gladwin MT, Hogg N, Kim-Shapiro DB. Nitric oxide scavenging by red blood cells as a function of hematocrit and oxygenation. *J Biol Chem* 2005;280:39024–39032.
11. Baev VM. Effect of sex on rheological properties of blood in adults. *Klin Lab Diagn* 2001;12:33–35.
12. Ballas SK, Smith ED. Red blood cell changes during the evolution of the sickle cell painful crisis. *Blood* 1992;79:2154–2163.
13. Banu KS, Govindarajulu P, Aruldas MM. Testosterone and estradiol modulate TSH-binding in the thyrocytes of Wistar rats: influence of age and sex. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2001;78:329–342.
14. Bartoli V, Albanese B, Manescalchi PG, Mannini L, Pasquini G. Influence of blood storage conditions and anticoagulants on results of blood cell filtration test. *Clin Hemorheol* 1986;6:137–149.
15. Barvitenko NN, Adragna NC, Weber RE. Erythrocyte signal transduction pathways, their oxygenation dependence and functional significance. *Cell Physiol Biochem* 2005;15:1–18.
16. Baskurt OK, Bor-Kucukatay M, Yalcin O, Meiselman HJ. Aggregation behavior and electrophoretic mobility of red blood cells in various mammalian species. *Biorheology* 2000;37:417–428.
17. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, Hardeman MR, Jung F, Liao F, Meiselman HJ, Nash G, Németh N, Neu B, Sandhagen B, Shin S, Thurston G, Wautier JL. International Expert Panel for Standardization of Hemorheological Methods, New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;42:75–97.
18. Baskurt OK, Fisher TC, Meiselman HJ. Sensitivity of the cell transit analyser (CTA) to alterations of red blood cell deformability: role of cell size-pore size ratio and sample preparation. *Clin. Hemorheol* 1996;16:753–765.
19. Baskurt OK, Meiselman HJ. Analyzing shear stress-elongation index curves: Comparison of two approaches to simplify data presentation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;31:23–30.
20. Baskurt OK, Meiselman HJ. Blood rheology and hemodynamics. *Semin Thromb Hemost* 2003;29:435–450.

21. Baskurt OK, Meiselman HJ. Data reduction methods for ektacytometry in clinical hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013;54:99–107.
22. Baskurt OK, Meiselman HJ. In vivo hemorheology. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 322–338.
23. Baskurt OK, Meiselman HJ. Red blood cell “aggregability”. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;43:353–354.
24. Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ. Determinants of red blood cell aggregation. In: Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ, eds. *Red Blood Cell Aggregation*, CRC Press, Boca Raton, 2012. pp. 9–29.
25. Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ. Measurement of red blood cell aggregation. In: Baskurt OK, Neu B, Meiselman HJ, eds. *Red Blood Cell Aggregation*, CRC Press, Boca Raton, 2012. pp. 63–132.
26. Baskurt OK, Temiz A, Meiselman HJ. Effect of superoxide anions on red blood cell rheologic properties. *Free Rad Biol Med* 1998;24:102–110.
27. Baskurt OK, Ulker P, Meiselman HJ. Nitric oxide, erythrocytes and exercise. *Clin Hemorheol Microcirc* 2011;49:175–181.
28. Baskurt OK. Deformability of red blood cells from different species studied by resistive pulse shape analysis technique. *Biorheology* 1996;33:169–179.
29. Baskurt OK. In vivo correlates of altered blood rheology. *Biorheology* 2008;45:629–638.
30. Baskurt OK. Mechanisms of blood rheology alterations. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 170–190.
31. Ben Assayag E, Bova I, Berliner S, Peretz H, Usher S, Shapira I, Bornstein NM. Gender differences in the expression of erythrocyte aggregation in relation to B beta-fibrinogen gene polymorphisms in apparently healthy individuals. *Thromb Haemost* 2006;95:428–433.
32. Bernassola F, Boumis G, Corazzari M, Bertini G, Citro G, Knight RA, Amiconi G, Melino G. Osmotic resistance of high-density erythrocytes in transglutaminase 2-deficient mice. *Biochem Biophys Res Commun* 2002;291:1123–1127.
33. Bernát SI, Bogár L, Csornai M, Imre S, Juricskay I, Kollár L, Novák Z, Pécsvárady Zs, Pongrácz E, Rozsos I, Tóth K. Módszertani útmutató a haemorheológiai mérések végzéséhez. *Érbetegségek* 2005;1:27–33.
34. Bessis M, Mohandas N, Feo C. Automated ektacytometry: a new method of measuring red cell deformability and red cell indices. *Blood Cells* 1980;6:315–327.
35. Bessis M. *Living blood cells and their ultrastructure*. Springer-Verlag, Berlin and New York, 1973.
36. Bhattacharya A. Red blood cell mechanics. *J Indian Med Assoc* 2011;109:668–670.
37. Bilito YY, Abdalla SS. Effects of selected flavonoids on deformability, osmotic fragility and aggregation of human erythrocytes. *Clin Hemorheol Microcirc* 1998;18:165–173.
38. Bishop JJ, Popel AS, Intaglietta M, Johnson PC. Rheological effects of red blood cell aggregation in the venous network: a review of recent studies. *Biorheology* 2001;38:263–274.
39. Bitbol M. Red blood cell orientation in orbit  $C = 0$ . *Biophys J* 1986;49:1055–1068.
40. Bock I, Perrin J, Braun F, Garçon L, Lesesve JF. A case of hereditary pyropoikilocytosis with mild expression and delayed onset. *Ann Biol Clin (Paris)* 2012;70:483–488.
41. Bogár L, Juricskay I, Késmárky G, Fehér G, Kenyeres P, Tóth K. Gender differences in hemorheological parameters of coronary artery disease patients. *Clin Hemorheol Microcirc* 2006;35:99–103.
42. Bogár L, Juricskay I, Késmárky G, Kenyeres P, Tóth K. Erythrocyte transport efficacy of human blood: a rheological point of view. *Eur J Clin Invest* 2005;35:687–690.
43. Bogár L. Diagnosztika. In: *A klinikai haemorheologia alapjai*, Bernát SI, Pongrácz E, szerk, Kornétás Kiadó, Budapest, 1999, pp. 33–50.
44. Bolokadze N, Lobjanidze I, Momtselidze N, Solomonias R, Shakarishvili R, Mchedlishvili G. Blood rheological properties and lipid peroxidation in cerebral and systemic circulation of neurocritical patients. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;30:99–105.

45. Booth EA, Lucchesi BR. Estrogen-mediated protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Toxicol* 2008;8:101–113.
46. Bor-Kucukatay M, Wenby RB, Meiselman HJ, Baskurt OK. Effects of nitric oxide on red blood cell deformability. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284:H1577–H1584.
47. Borst SE, Quindry JC, Yarrow JF, Conover CF, Powers SK. Testosterone administration induces protection against global myocardial ischemia. *Horm Metab Res* 2010;42:122–129.
48. Brandao ML, Roselino JES, Piccinato CE, Cherri J. Mitochondrial alterations in skeletal muscle submitted to total ischemia. *J Surg Res* 2003;110:235–240.
49. Bráth E, Furka I, N. Németh, Szabó Gy, Pető K, Ács G, Lesznyák T, Cserni T, Pap Szekeres J, Mikó I. Changes in the deformability of red blood cells caused by mesenteric ischemia-reperfusion injury. An experimental animal study. In: *Proceedings of the 37<sup>th</sup> Congress of the European Society for Surgical Research*, Boros M, ed., Monduzzi Editore, Bologna, 2002, pp. 281–285.
50. Brinsfield DE, Hopf MA, Geering RB, Galletti PM. Hematological changes in long-term perfusion. *J Appl Physiol* 1962;17:531–534.
51. Brown DW, Giles WH, Croft JB. Hematocrit and the risk of coronary heart disease mortality. *Am Heart J* 2001;142:657–663.
52. Brun J. Hormones, metabolism and body composition as major determinants of blood rheology: potential pathophysiological meaning. *Clin Hemorheol Microcirc* 2002;26:63–79.
53. Butler T, Bradley CA, Owensby JE. Plasma components protect erythrocytes against experimental haemolysis caused by mechanical trauma and by hypotonicity. *Int J Exp Pathol* 1992;73:27–33.
54. Bywaters EGL, Beall J. Crush injuries and renal function. *Br Med J* 1941;1:427–432.
55. Carvalho FA, Connell S, Miltenberger-Miltenyi G, Pereira SV, Tavares A, Ariëns RA, Santos NC. Atomic force microscopy-based molecular recognition of a fibrinogen receptor on human erythrocytes. *ACS Nano* 2010;4:4609–4620.
56. Chandran KB, Rittgers SE, Yoganathan AP. Fundamentals of fluid mechanics. In: Chandran KB, Rittgers SE, Yoganathan AP, eds. *Biofluid Mechanics*. CRC Press, Boca Raton, 2012, pp. 3–48.
57. Chandran KB, Rittgers SE, Yoganathan AP. Cardiovascular physiology. In: Chandran KB, Rittgers SE, Yoganathan AP, eds. *Biofluid Mechanics*. CRC Press, Boca Raton, 2012, pp. 69–108.
58. Chandran KB, Rittgers SE, Yoganathan AP. Rheology of blood and vascular mechanics. In: Chandran KB, Rittgers SE, Yoganathan AP, eds. *Biofluid Mechanics*. CRC Press, Boca Raton, 2012, pp. 109–154.
59. Chasis JA, Mohandas N. Erythrocyte membrane deformability and stability: two distinct membrane properties that are independently regulated by skeletal protein associations. *J Cell Biol* 1986;103:343–350.
60. Chen D, Kaul DK. Rheologic and hemodynamic characteristics of red cells of mouse, rat and human. *Biorheology* 1994;31:103–113.
61. Chien S, Schmalzer EA, Lee MML, Impelluso T, Skalak R. Role of white blood cells in filtration of blood cell suspension, *Biorheology* 1983;20:11–27.
62. Chien S, Usami S, Dellenback RJ, Bryant CA. Comparative hemorheology – hematological implications of species differences in blood viscosity. *Biorheology* 1971;8:35–57.
63. Chien S, Usami S, Taylor HM, Lundberg JL, Gregersen MI. Effect of hematocrit and plasma proteins on human blood rheology at low shear rates. *J Appl Physiol* 1966;21:81–87.
64. Chien S. Biophysical behavior of red cells in suspension. In: *The red blood cell*, Surgenor DM, ed. Academic Press, New York, 1975, pp. 1031–1133.
65. Chiu CJ, McArdle AH, Brown R, Scott RJ, Gurd FN. Intestinal mucosal lesion in low-flow states. A morphologic, hemodynamic and metabolic reappraisal. *Arch Surg* 1970;101:478–483.
66. Chiu JJ, Usami S, Chien S. Vascular endothelial responses to altered shear stress: pathologic implications for atherosclerosis. *Ann Med* 2009;41:19–28.
67. Chong T, Nguyen L, Owens CD, Conte MS, Belkin M. Suprarenal aortic cross-clamp position: a reappraisal of its effects on outcomes for open abdominal aortic aneurysm repair. *J Vasc Surg* 2009;49:873–880.

68. Cicha I, Suzuki Y, Tateishi N, Maeda N. Changes of RBC aggregation in oxygenation-deoxygenation: pH dependency and cell morphology. *Am J Physiol-Heart Circ Physiol* 2003;284:H2335–H2342.
69. Clark MR, Mohandas N, Shohet SB. Osmotic gradient ektacytometry: comprehensive characterization of red cell volume and surface maintenance. *Blood* 1983;61:899–910.
70. Cokelet GR, Meiselman HJ. Basic aspects of hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 21–33.
71. Cokelet GR, Meiselman HJ. Macro- and micro-rheological properties of blood. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 45–71.
72. Cokkinos DD, Antypa E, Tserotas P, Kratimenou E, Kyratzi E, Deligiannis I, Kachrimanis G, Piperopoulos PN. Emergency ultrasound of the scrotum: a review of the commonest pathologic conditions. *Curr Probl Diagn Radiol* 2011;40:1–14.
73. Collard CD, Gelman S. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury. *Anesthesiology* 2001;94:1133–1138.
74. Connes P, Bouix D, Py G, Prefaut C, Mercier J, Brun JF, Caillaud C. Opposite effects of in vitro lactate on erythrocyte deformability in athletes and untrained subjects. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;31:311–318.
75. Connes P, Caillaud C, Py G, Mercier J, Hue O, Brun JF. Maximal exercise and lactate do not change red blood cell aggregation in well trained athletes. *Clin Hemorheol Microcirc* 2007;36:319–326.
76. Connes P, Tripette J, Mukisi-Mukaza M, Baskurt OK, Toth K, Meiselman HJ, Hue O, Antoine-Jonville S. Relationships between hemodynamic, hemorheological and metabolic responses during exercise. *Biorheology* 2009;46:133–143.
77. Cooke BM, Lim CT. Mechanical and adhesive properties of healthy and diseased red blood cells. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 91–113.
78. Copley AL. Hemorheological aspects of the endothelium-plasma interface. *Microvasc Res* 1974;8:192–212.
79. Copley AL. The history of clinical hemorheology. *Clin Hemorheol* 1985;5:765–812.
80. Copley AL. The rheology of blood. A survey. *J Colloid Sci* 1952;7:323–333.
81. Corry WD, Meiselman HJ. Modification of erythrocyte physicochemical properties by millimolar concentrations of glutaraldehyde. *Blood Cells* 1978;4:465–483.
82. Crandall ED, Critz AM, Osher AS, Keljo DJ, Forster RE. Influence of pH on elastic deformability of human erythrocyte-membrane. *Am J Physiol* 1978;235:C269–C278.
83. Cruz J, Jaggi JL, Hoffstad OJ. Cerebral flow, vascular resistance, and oxygen metabolism in acute brain trauma: redefining the role of cerebral perfusion pressure? *Crit Care Med* 1995;23:1412–1417.
84. Cynober T, Mohandas N, Tchernia G. Red cell abnormalities in hereditary spherocytosis: relevance to diagnosis and understanding of the variable expression of clinical severity. *J Lab Clin Med* 1996;128:259–269.
85. De Franceschi L, Bachir D, Galacteros F, Tchernia G, Cynober T, Alper S, Platt O, Beuzard Y, Brugnara C. Oral magnesium supplements reduce erythrocyte dehydration in patients with sickle cell disease. *J Clin Invest* 1997;100:1847–1852.
86. de Jong K, Larkin SK, Eber S, Franck PFH, Roelofsen B, Kuypers FA. Hereditary spherocytosis and elliptocytosis erythrocytes show a normal transbilayer phospholipid distribution. *Blood* 1999;94:319–325.
87. de Oliveira S., Saldanha C. An overview about erythrocyte membrane. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;44:63–74.
88. Delaunay J. The hereditary stomatocytoses: genetic disorders of the red cell membrane permeability to monovalent cations. *Semin Hematol* 2004;41:165–172.
89. Deuel JW, Lutz HU, Misselwitz B, Goede JS. Asymptomatic elevation of the hyperchromic red blood cell subpopulation is associated with decreased red cell deformability. *Ann Hematol* 2012;91:1427–1434.

90. Dintenfass L. The rheology of blood in vascular disease. *J R Coll Physicians Lond* 1971;5:231–240.
91. Doffin J, Perrault R, Garnaud G. Blood viscosity measurements in both extensional and shear flow by a falling ball viscometer. *Biorheology Suppl* 1984;1:89–93.
92. Dormandy J, Flute P, Mátrai A, Bogár L, Mikita J. The new St. George's blood filterometer. *Clin Hemorheol* 1985;5:975–983.
93. Dormandy JA. Significance of hemorheology in the management of the ischemic limb. *World J Surg* 1983;7:319–325.
94. Du Y, Yao W, Qian Y, Han M, Wen Z, Ma L. Hemorheological changes in patients with living-donor renal transplantation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2012;47:199–209.
95. Dubal DB, Kashon ML, Pettigrew LC, Ren JM, Finklestein SP, Rau SW, Wise PM. Estradiol protects against ischemic injury. *J Cereb Blood Flow Metab* 1998;18:1253–1258.
96. Dupire J, Socol M, Viallat A. Full dynamics of a red blood cell in shear flow. *Proc Natl Acad Sci USA* 2012;109:20808–20813.
97. Ellati RT, Kavoussi PK, Turner TT, Lysiak JJ. Twist and shout: A clinical and experimental review of testicular torsion. *Korean J Urol* 2009;50:1159–1167.
98. Eltzschig H, Eckle T. Ischemia and reperfusion – from mechanism to translation. *Nature Medicine* 2011;17:1391–1401.
99. Hernandez T, Saudan P, Berney T, Merminod T, Bednarkiewicz M, Martin PY. Risk factors for early failure of native arteriovenous fistulas. *Nephron Clin Pract* 2005;101:39–44.
100. Ernst E, Mátrai A. Zum Thema 'optimaler Hämatocrit' – Rationale der Hämodilutionstherapie, *Herz Kreislauf* 1983;9:409–415.
101. Ernst E. Plasma fibrinogen – an independent cardiovascular risk factor. *J Intern Med* 1990;227:365–372.
102. Errill EW. Rheology of blood. *Physiol Rev* 1969;49:863–888.
103. Esquivel CO, Blaisdell FW. Why small caliber vascular grafts fail: a review of clinical and experimental experience and the significance of the interaction of blood at the interface. *J Surg Res* 1986;41:1–15.
104. Fåhræus R, Lindqvist T. The viscosity of the blood in narrow capillary tubes. *Am J Physiol* 1931;96:562–568.
105. Fåhræus R. The influence of the rouleau formation of the erythrocytes on the rheology of the blood. *Acta Medica Scandinavica* 1958;161:151–165.
106. Famodu AA, Awodu OA. Anthropometric indices as determinants of haemorheological cardiovascular disease risk factors in Nigerian adults living in a semi-urban community. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;43:335–344.
107. Feinglass J, McDermott MM, Foroohar M, Pearce WH. Gender differences in interventional management of peripheral vascular disease: evidence from a blood flow laboratory population. *Ann Vasc Surg* 1994;8:343–349.
108. Feo C, Phillips WM. The influence of suspension osmolality and erythrocyte volume on cell deformability. *Nouv Rev Fr Hematol* 1982;24:295–299.
109. Filho DW, Torres MA, Bordin AL, Crezcynski-Pasa TB, Boveris A. Spermatic cord torsion, reactive oxygen and nitrogen species and ischemia-reperfusion injury. *Mol Aspects Med* 2004;25:199–210.
110. Finkelstein A, Talbot H, Topsu S, Cynober T, Garçon L, Havkin G, Kuypers F. Comparison between a camera and a four quadrant detector, in the measurement of red blood cell deformability as a function of osmolality. *J Med Bioeng* 2013;2:62–65.
111. Fisher T, Schmid-Schönbein H. Tank tread motion of red cell membranes in viscometric flow. In: *Red Cell Rheology*, Bessis M, Shohet SB, Mohandas N, eds, Springer Verlag, Berlin, 1978, pp. 347–358.
112. Fisher TM. Tank-tread frequency of the red cell membrane: dependence on the viscosity of the suspending medium. *Biophys J* 2007;93:2553–2561.
113. Forconi S, Guerrini M, Ravelli P, Rossi C, Ferrozzi C, Pecchi S, Biasi G. Arterial and venous blood viscosity in ischemic lower limbs in patients affected by peripheral obliterative arterial disease. *J Cardiovasc Surg (Torino)* 1979;20:379–384.

114. Forsyth AM, Wan J, Ristenpart WD, Stone HA. The dynamic behavior of chemically “stiffened” red blood cells in microchannel flows. *Microvasc Res* 2010;80:37–43.
115. Fowkes FG, Pell JP, Donnan PT, Housley E, Lowe GD, Riemersma RA, Prescott RJ. Sex differences in susceptibility to etiologic factors for peripheral atherosclerosis. Importance of plasma fibrinogen and blood viscosity. *Arterioscler Thromb* 1994;14:862–868.
116. Fritz OG Jr. Anomalous diffusion of erythrocytes in the presence of polyvinylpyrrolidone. *Biophys J* 1984;46:219–228.
117. Fülöp L, Bányász T, Szabó G, Tóth IB, Biró T, Lőrincz I, Balogh A, Pető K, Mikó I, Nánási PP. Effects of sex hormones on ECG parameters and expression of cardiac ion channels in dogs. *Acta Physiol Scand* 2006;188:163–171.
118. Furka A, Németh N, Gulyás A, Bráth E, Pető K, Takács EI, Furka I, Sápó P, Mikó I. Hemorheological changes caused by intermittent Pringle (Baron) maneuver in experimental beagle canine model. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;40:177–189.
119. Furlanello T, Tasca S, Caldin M, Carli E, Patron C, Tranquillo M, Lubas G, Solano-Gallego L. Artifactual change in canine blood following storage, detected using the ADVIA 120 hematology analyzer. *Vet Clin Pathol* 2006;35:42–46.
120. Gaetgens P, Kreutz F, Albrecht KH. Optimal hematocrit for canine skeletal muscle during rhythmic isotonic exercise. *Eur J Appl Physiol* 1979;41:27–39.
121. Geddes JB, Carr RT, Wu F, Lao Y, Maher M. Blood flow in microvascular networks: a study in nonlinear biology. *Chaos* 2010;20:045123.
122. Gibbons CP. Primary vascular access. *Eur J Vasc Endovasc Surg* 2006;31:523–529.
123. Goldsmith HL, Marlow J. Flow behavior of erythrocytes, I. Rotation and deformation in dilute suspensions. *Proc R Soc Lond B* 1972;182:351–384.
124. Goncalves I, Saldanha C, Martins J e Silva. Beta-estradiol effect on erythrocyte aggregation – a controlled in vitro study. *Clin Hemorheol Microcirc* 2001;25:127–134.
125. Gonzalez CR, Caminos JE, Vazquez MJ, Garces MF, Cepeda LA, Angel A, Gonzalez AC, Garcia-Rendueles ME, Sangiao-Alvarellos S, Lopez M, Bravo SB, Nogueiras R, Dieguez C. Regulation of visceral adipose tissue-derived serine protease inhibitor by nutritional status, metformin, gender and pituitary factors in rat white adipose tissue. *J Physiol* 2009;587:3741–3750.
126. Gori T, Forconi S. Endothelium and hemorheology. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 339–350.
127. Gori T, Münzel T. Oxidative stress and endothelial dysfunction: therapeutic implications. *Ann Med* 2011;43:259–272.
128. Grady D, Wenger NK, Herrington D, Khan S, Furberg C, Hunninghake D, Vittinghoff E, Hulley S. Postmenopausal hormone therapy increases risk for venous thromboembolic disease. The heart and estrogen/progestin replacement study. *Ann Intern Med* 2000;132:689–696.
129. Granger DN, Höllwarth ME, Parks DA. Ischemia-reperfusion injury: role of oxygen-derived free radicals. *Acta Physiol Scand Suppl* 1986;548:47–63.
130. Grzybowski A, Sak J. Edmund Biernacki (1866-1911): Discoverer of the erythrocyte sedimentation rate. On the 100th anniversary of his death. *Clin Dermatol* 2011;29:697–703.
131. Guillet R, Driss F, Perrotin P, Pautou C, Nalpas B, Boynard M. Gender, menstrual cycle, oral contraceptives and red blood cell deformability in healthy adult subjects. *Clin Hemorheol Microcirc* 1998;19:83–88.
132. Guo Q, Duffy SP, Matthews K, Santoso AT, Scott MD. Microfluidic analysis of red blood cell deformability. *J Biomechanics* 2014;47:1767–1776.
133. Haimovici H. Arterial embolism with massive ischaemic myopathy and myoglobinuria. *Surgery* 1960;47:739–747.
134. Haines AP, Newman R, Howarth DJ. Levels of haemostatic variables in arterial and venous blood from patients with ischaemic heart disease. *Thromb Res* 1979;16:421–426.
135. Haithcock BE, Shepard AD, Raman SBK, Conrad MF, Pandurangi K, Fanous NH. Activation of fibrinolytic pathways is associated with duration of supraceliac aortic cross-clamping. *J Vasc Surg* 2004;40:325–333.

136. Hardeman MR, Dobbe JGG, Ince C. The laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA) as red blood cell aggregometer. *Clin Hemorheol Microcirc* 2001;25:1–11.
137. Hardeman MR, Goedhart PT, Shin S. Methods in hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 242–266.
138. Hardeman MR, Goedhart RPT, Dobbe JGG, Lettinga KP. Laser-assisted optical rotational cell analyzer (LORCA). 1. A new instrument for measurement of various structural hemorheological parameters. *Clin Hemorheol* 1994;14:605–618.
139. Harkness J. The viscosity of human blood plasma; its measurement in health and disease. *Biorheology* 1971;8:171–193.
140. Heinrich J, Assmann G. Fibrinogen and cardiovascular risk. *J Cardiovasc Risk* 1995;2:197–205.
141. Heo Y, Jung H, Shin S. Osmotic deformability of erythrocytes at various shear stresses. *Clin Hemorheol Microcirc* 2015;59:211–218.
142. Hirakata H, Kanai H, Fukuda K, Tsuruya K, Ishida I, Kubo M, Hirano T, Hirakata E, Kuwabara Y, Fujishima M. Optimal hematocrit for the maximum oxygen delivery to the brain with recombinant human erythropoietin in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2000;53:354–361.
143. Ho J, Sibbald WJ, Chin-Yee IH. Effects of storage on efficacy of red cell transfusion: When is it not safe? *Crit Care Med* 2003;31:S687–S697.
144. Hochmuth RM, Waugh RE. Erythrocyte membrane elasticity and viscosity. *Annu Rev Physiol* 1987;49:209–219.
145. Höffkes HG, Ehrly AM. Optimal hematocrit in patients with intermittent claudication. Exercise induced muscle tissue oxygen pressure after stepwise isovolemic hemodilution. *Clin Hemorheol* 1992;12:321–327.
146. Holmberg A, Sandhagen B, Bergqvist D. Hemorheologic variables in critical limb ischemia before and after infrainguinal reconstruction. *J Vasc Surg* 2000;31:691–695.
147. ICSH Expert Panel on Blood Rheology. Guidelines for measurement of blood viscosity and erythrocyte deformability. *Clin Hemorheol* 1986;6:439–453.
148. Jassem W, Fuggle SV, Rela M, Koo DD, Heaton ND. The role of mitochondria in ischemia/reperfusion injury. *Transplantation* 2002;73:493–499.
149. Jayachandran M, Owen WG, Miller VM. Effects of ovariectomy on aggregation, secretion, and metalloproteinases in porcine platelets. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;284:H1679–H1685.
150. Johnson RM, Ravindranath Y. Osmotic scan ektacytometry in clinical diagnosis. *J Pediatr Hematol Oncol* 1996;18:122–9.
151. Johnson RM. pH effects on red blood cell deformability. *Blood Cells* 1985;11:317–321.
152. Józsa T, Telek A, Kutasy B, Benyó M, Csanádi G, Kovács I, Balla Gy, Flaskó T, Csernoch L, Kiss Cs. Effect of hydrocele on appendix testis in children. *Asian J Androl* 2009;11:741–745.
153. Jung F, Mrowietz C, Hiebl B, Franke RP, Pindur G, Sternitzky R. Influence of rheological parameters on the velocity of erythrocytes passing nailfold capillaries in humans. *Clin Hemorheol Microcirc* 2011;48:129–139.
154. Kakhniashvili DG, Bulla LA Jr, Goodman SR. The human erythrocyte proteome: analysis by ion trap mass spectrometry. *Mol Cell Proteomics* 2004;3:501–509.
155. Kalogeris T, Baines CP, Krenz M, Korthuis RJ. Cell biology of ischemia/reperfusion injury. *Int Rev Cell Mol Biol* 2012;298:229–317.
156. Kameneva MV, Antaki JF. Mechanical trauma to blood. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press, Amsterdam, 2007. pp. 206–227.
157. Kameneva MV, Repko BM, Krasik EF, Perricelli BC, Borovetz HS. Polyethylene glycol additives reduce hemolysis in red blood cell suspensions exposed to mechanical stress. *ASAIO J* 2003;49:537–542.
158. Kameneva MV, Watach MJ, Borovetz HS. Gender difference in rheologic properties of blood and risk of cardiovascular diseases. *Clin Hemorheol Microcirc* 1999;21:357–363.
159. Kaperonis AA, Chien S. Effects of centrifugation on transmembrane water loss from normal and pathologic erythrocytes. *Proc Soc Exp Biol Med* 1989;190:174–178.

160. Karkos CD, Harkin DW, Giannakou A, Gerassimidis TS. Mortality after endovascular repair of ruptured abdominal aortic aneurysms: a systematic review and meta-analysis. *Arch Surg* 2009;144:770–778.
161. Kasahara H, Shimizu H, Yozu R. Postoperative renal function after juxtarenal aortic aneurysm repair with simple cross-clamping. *Ann Vasc Surg* 2013;27:291–298.
162. Kathyukhin LN, Kazennov AM, Maslova MN, Matskevich YuA. Rheologic properties of mammalian erythrocytes: relationships to transport ATPases. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol* 1998;120:493–498.
163. Kayar E, Mat F, Meiselman HJ, Baskurt OK. Red blood cell rheological alterations in a rat model of ischemia-reperfusion injury. *Biorheology* 2001;38:405–414.
164. Kee DB Jr, Wood JH. Rheology of the cerebral circulation. *Neurosurgery* 1984;15:125–131.
165. Kelly DM, Shiba H, Nakagawa S, Irefin S, Egtesad B, Quintini C, Aucejo F, Hashimoto K, Fung JJ, Miller C. Hepatic blood flow plays an important role in ischemia-reperfusion injury. *Liver Transpl*. 2011;17:1448–1456.
166. Késmárky G, Kenyeres P, Rábai M, Tóth K. Plasma viscosity: a forgotten variable. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;39:243–246.
167. Kieseewetter H, Jung F, Kotitschke G, Nuttgens HP, Witt R, Winkelhog C, Ladwig KH, Waterloo E, Roebruck P, Schneider R. Prevalence, risk factors and rheological profile of arterial vascular disease; first results of the Aachen study *Folia Haematol. Int. Mag. Klin. Morphol Blutforsch* 1988;115:587–593.
168. Kim Y, Kim K, Park YK. Measurement techniques for red blood cell deformability: recent advances. In: *Blood Cell – An Overview of Studies in Hematology*. Moschandreu TE, ed. InTech, 2012, pp. 167–194.
169. Kksal C, Ercan M, Bozkurt AK. Hemorheological variables in critical limb ischemia. *Int Angiol* 2002;21:355–359.
170. Koenig W, Ernst E, Matrai A. Blood rheology associated with cardiovascular risk factors and chronic cardiovascular diseases: results of an epidemiologic cross-sectional study. *Angiology* 1988;39:986–995.
171. Koltai K, Fehér G, Kenyeres P, Lénárt I, Alexy T, Horváth B, Marton Z, Késmárky G, Tóth K. Relation of platelet aggregation and fibrinogen levels to advancing age in aspirin- and thienopyridine-treated patients. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;40:295–302.
172. Koppensteiner R. Blood rheology in emergency medicine. *Semin Thromb Hemost* 1996;22:89–91.
173. Kosieradzki M, Pratschke J, Kupiec-Weglinski J, Rowinski W. Ischemia/reperfusion injury, its mechanisms, and prevention. *J Transplant* 2012;610370.
174. Koutsouris D, Guillet R, Wenby RB, Meiselman HJ. Determination of erythrocyte transit times through micropores. II. Influence of experimental and physicochemical factors. *Biorheology* 1989;26:881–898.
175. Kuke D, Donghua L, Xiaoyan S, Yanjun Z. Alteration of blood hemorheologic properties during cerebral ischemia and reperfusion in rats. *J Biomech* 2001;34:171–175.
176. Kuzman D, Znidarcic T, Gros M, Vrhovec S, Svetina S, Zeks B. Effect of pH on red blood cell deformability. *Pflug Arch – Eur J Physiol* 2000;440:R193–R194.
177. Kvietys PR, Granger DN. Role of reactive oxygen and nitrogen species in the vascular responses to inflammation. *Free Radic Biol Med* 2012;52:556–592.
178. Kwaan HC. Role of plasma proteins in whole blood viscosity: a brief clinical review. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;44:167–176.
179. Kyriakidesa ZS, Petinakisa P, Kaklamanisa L, Sbarounia E, Karayannakos P, Iliopoulos D, Dontas I, Kremastinos DT. Intramuscular administration of estrogen may promote angiogenesis and perfusion in a rabbit model of chronic limb ischemia. *Cardiovasc Res* 2001;49:626–633.
180. Lam KK, Hu CT, Ou TY, Yen MH, Chen HI. Effects of oestrogen replacement on steady and pulsatile haemodynamics in ovariectomized rats. *Br J Pharmacol* 2002;136:811–818.
181. Landry G, Lau I, Liem T, Mitchell E, Moneta G. Open abdominal aortic aneurysm repair in the endovascular era: effect of clamp site on outcomes. *Arch Surg* 2009;144:811–816.
182. Leahy MJ, ed. *Microcirculation Imaging*. Wiley-Blackwell, Hoboken, USA, 2012.



183. Lee BK, Alexy T, Wenby RB, Meiselman HJ. Red blood cell aggregation quantitated via Myrenne aggregometer and yield shear stress. *Biorheology* 2007;44:29–35.
184. Lee BK, Durairaj A, Mehra A, Wenby RB, Meiselman HJ, Alexy T. Microcirculatory dysfunction in cardiac syndrome X: role of abnormal blood rheology. *Microcirculation* 2008;15:451–459.
185. Lefer AM, Lefer DJ. The role of nitric oxide and cell adhesion molecules on the microcirculation in ischaemia-reperfusion. *Cardiovasc Res* 1996;32:743–751.
186. Leverett LB, Hellums JD, Alfrey CP, Lynch BC. Red blood cell damage by shear stress. *Biophys J* 1972;12:257–273.
187. Lewis DA, Bracamonte MP, Rud KS, Miller VM. Selected contribution: Effects of sex and ovariectomy on responses to platelets in porcine femoral veins. *J Appl Physiol* 2001;91:2823–2830.
188. Li HJ, Kao TC, Liu DW, Yu SY, Ko PJ, Hsieh HC. Predictors of outcome after open repair of ruptured abdominal aortic aneurysms. *Chang Gung Med J* 2011;34:520–527.
189. Lim GHW, Wortis M, Mukhopadhyay R. Stomatocyte-discocyte-echinocyte sequence of the human red blood cell: Evidence for the bilayer-couple hypothesis from membrane mechanics. *PNAS* 2002;99:16766–16769.
190. Linderkamp O, Meiselman HJ. Geometric, osmotic, and membrane mechanical properties of density-separated human red cells. *Blood* 1982;59:1121–1127.
191. Lindmark K, Engstrom KG. Analysis of flow acceleration during erythrocyte filtration: dependence of hematocrit and cell rigidity. *Biorheology* 1996;33:379–395.
192. Lip GY, Blann AD, Jones AF, Beevers DG. Effects of hormone-replacement therapy on hemostatic factors, lipid factors, and endothelial function in women undergoing surgical menopause: implications for prevention of atherosclerosis. *Am Heart J* 1997;134:764–771.
193. Lipovac V, Gavella M, Turk Z, Skrabalo Z. Influence of lactate on the insulin action on red blood cell filterability. *Clin. Hemorheol* 1985;5:421–428.
194. Lipowsky HH, Cram LE, Justice W, Eppihimer MJ. Effect of erythrocyte deformability on in vivo red cell transit time and hematocrit and their correlation with in vitro filterability. *Microvasc Res* 1993;46:43–64.
195. Lipowsky HH, Firrell JC. Microvascular hemodynamics during systemic hemodilution and hemoconcentration. *Am J Physiol* 1986;250:H908–H922.
196. Lipowsky HH. Blood rheology aspects of the microcirculation. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 307–321.
197. Lipowsky HH. Microvascular rheology and hemodynamics. *Microcirculation* 2005;12:5–15.
198. Lisovskaya IL, Shurkhina ES, Nesterenko VM, Rozenberg JM, Ataullakhov FI. Determination of the content of nonfilterable cells in erythrocyte suspensions as a function of the medium osmolarity. *Biorheology* 1998;35:141–153.
199. Lysiak JJ, Turner SD, Nguyen QA, Singbartl K, Ley K, Turner TT. Essential role of neutrophils in germ cell-specific apoptosis following ischemia/reperfusion injury of the mouse testis. *Biol Reprod* 2001;65:718–725.
200. Macey RI, Yousef LW. Osmotic stability of red cells in renal circulation requires rapid urea transport. *Am J Physiol* 1988;254:C669–C674.
201. Machiedo GW, Zaets S, Berezina T, Xu DZ, Spolarics Z, Deitch EA. Red blood cell damage after trauma-hemorrhage is modulated by gender. *J Trauma* 2004;56:837–844.
202. Maciej W, Krystyn S, Slowinska L, Jerzy P, Marek G, Wojciech Z, Boleslaw T. Sex-dependent differences in rheological properties and the relation of blood viscosity to erythrocyte aggregation indices among morbidly obese patients. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;44:259–267.
203. Mackrell PJ, Cull DL, Carsten CG III. Hemodialysis access: Placement and management of complications. In: *Hallett JW Jr, Mills JL, Earnshaw JJ, Reekers JA, eds. Comprehensive vascular and endovascular surgery*. St. Louis: Mosby; 2004. pp. 361–390.
204. Maeda N. Erythrocyte rheology in microcirculation. *Jpn J Physiol* 1996;46:1–14.

205. Manno S, Takakuwa Y, Mohandas N. Identification of a functional role for lipid asymmetry in biological membranes: Phosphatidylserine-skeletal protein interactions modulate membrane stability. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2002;99:1943–1948.
206. Mátrai Á, Reid H, Bogár L, Flute PT, Dormandy JA. Initial filtration rate and initial clogging in the Hemorheometre. *Biorheology* 1985;22:275–284.
207. Mátrai Á, Whittington RB, Ernst E. A simple method of estimating whole blood viscosity at standardized hematocrit. *Clin Hemorheol* 1987;7:261–265.
208. McCord JM. Oxygen-derived free radicals in post-ischemic tissue injury. *N Engl J Med* 1985;312:159–163.
209. Mchedlishvili G, Lobjanidze I, Momtselidze N, Bolokadze N, Varazashvili M, Shakarishvili R. About spread of local cerebral hemorheological disorders to whole body in critical care patients. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;31:129–138.
210. Mchedlishvili G, Varazashvili M, Kumsishvili T, Lobjanidze I. Regional hematocrit changes related to blood flow conditions in the arterial bed. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003;29:71–79.
211. Mchedlishvili G, Varazashvili M. Changes in blood flow: hematocrit relationship in larger blood vessels. *Biorheology* 1986;23:385–393.
212. Medaille C, Briend-Marchal A, Braun JP. Stability of selected hematology variables in canine blood kept at room temperature in EDTA for 24 and 48 hours. *Vet Clin Pathol* 2006;35:18–23.
213. Meiselman HJ. Morphological determinants of red blood cell deformability. *Scand J Clin Lab Invest* 1981;41(Suppl. 156):27–34.
214. Meiselman HJ. Rheology of shape-transformed human red cells. *Biorheology* 1978;15:225–237.
215. Meldrum DR, Wang M, Tsai BM, Kher A, Pitcher JM, Brown JW, Meldrum KK. Intracellular signaling mechanisms of sex hormones in acute myocardial inflammation and injury. *Front Biosci* 2005;10:1835–1867.
216. Mendelsohn ME, Karas RH. Molecular and cellular basis of cardiovascular gender differences. *Science* 2005;308:1583–1587.
217. Mendelsohn ME. Estrogen actions in the cardiovascular system. *Climacteric* 2009;12(Suppl. 1):18–21.
218. Menger MD, Steiner D, Messmer K. Microvascular ischemia-reperfusion injury in striated muscle: significance of 'no-reflow'. *Am J Physiol* 1992;263:H1892–H1900.
219. Menu P, Stoltz JF, Kerdjoudj H. Progress in vascular graft substitute. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013;53:117–129.
220. Meram E, Yilmaz BD, Bas C, Atac N, Yalcin O, Meiselman HJ, Baskurt OK. Shear stress induced improvement of red blood cell deformability. *Biorheology* 2013;50:165–176.
221. Michalska-Malecka K, Slowinska L, Dorecka M, Romaniuk W. Correlations in some pathogenetic factors and values of hemorheological parameters in age-related macular degeneration. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;39:209–216.
222. Mikó I, Bráth E, Németh N, Furka A, Sipka S Jr, Pető K, Serfőző J, Kovács J, Imre S, Benkő I, Galuska L, Sipka S, Ács G, Furka I. Spleen autotransplantation. Morphological and functional follow-up after spleen autotransplantation in mice: a research summary. *Microsurgery* 2007;27:312–316.
223. Mirossay L, Mojzis J, Jandoseková M, Lukacín S, Nicák A. Comparison of two methods in erythrocyte microrheology determination using glutaraldehyde-treated cells. *Clin Hemorheol Microcirc* 1997;17:187–92.
224. Mohandas N, Chasis JA. Red blood cell deformability, membrane material properties and shape: regulation by transmembrane, skeletal and cytosolic proteins and lipids. *Semin Hematol* 1993;30:171–192.
225. Mohandas N, Gallagher PG. Red cell membrane: past, present, and future. *Blood* 2008;112:3939–3948.
226. Mohandas N, Shohet SB. The role of membrane-associated enzymes in regulation of erythrocyte shape and deformability. *Clin Haematol* 1981;10:223–237.
227. Mokken FC, van der Waart FJ, Henny CP, Goedhart PT, Gelb AW. Differences in peripheral arterial and venous hemorheologic parameters. *Ann Hematol* 1996;73:135–137.
228. Muravyov A, Tikhomirova I. Role Ca(2+) in mechanisms of the red blood cells microrheological changes. *Adv Exp Med Biol* 2012;740:1017–1038.

229. Murphy E, Steenbergen C. Gender-based differences in mechanisms of protection in myocardial ischemia-reperfusion injury. *Cardiovasc Res* 2007;75:478–486.
230. Musielak M. Red blood cell-deformability measurement: review of techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;42:47–64.
231. Nanobashvili J, Neumayer C, Fuegl A, Sporn E, Prager M, Polterauer P, Malinski T, Huk I. Ischaemia/reperfusion injury of skeletal muscle: mechanism, morphology, treatment strategies, and clinical applications. *Eur Surg* 2002;34:83–89.
232. Nash G. Filterability of blood cells: methods and clinical applications. *Biorheology* 1990;27:873–882.
233. Nash GB, Meiselman HJ. Effects of dextran and polyvinylpyrrolidone on red cell geometry and membrane elasticity. *Ann NY Acad Sci* 1983;416:255–262.
234. Nash GB, Watts T, Thornton C, Barigou M. Red cell aggregation as a factor influencing margination and adhesion of leukocytes and platelets. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;39:303–310.
235. Nathan DP, Brinster CJ, Jackson BM, Wang GJ, Carpenter JP, Fairman RM, Woo EY. Predictors of decreased short- and long-term survival following open abdominal aortic aneurysm repair. *J Vasc Surg* 2011;54:1237–1243.
236. Németh N, Ács G, Lesznyák T, Bráth E, Imre S, Urbán F, Menzel M, Furka I, Mikó I. A vörösvérsejtek deformabilitásáról nyert mérési tapasztalatok laboratóriumi állatfajokon. *Magy Állatorvosok L* 2004;126:225–230.
237. Németh N, Lesznyák T, Bráth E, Ács G, Nagy A, Pap Szekeres J, Furka I, Mikó I. Changes in microcirculation after ischemic process in rat skeletal muscle. *Microsurgery* 2003;23:419–423.
238. Németh N, Lesznyák T, Szokoly M, Furka I, Mikó I. Allopurinol prevents erythrocyte deformability impairing but not the hematological alterations after limb ischemia-reperfusion in rats. *J Invest Surg* 2006;19:47–56.
239. Németh N, Szokoly M, Ács G, Bráth E, Lesznyák T, Furka I, Mikó I. Systemic and regional hemorheological consequences of warm and cold hind limb ischemia-reperfusion in a canine model. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;30:133–145.
240. Neu B, Meiselman HJ. Red blood cell aggregation. In: Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 114–136.
241. Nguyen L, Lievano G, Ghosh L, Radhakrishnan J, Fornell L, John E. Effect of unilateral testicular torsion on blood flow and histology of contralateral testes. *J Pediatr Surg* 1999;34:680–683.
242. Obeid AN, Barnett NJ, Dougherty G, Ward G. A critical review of laser Doppler flowmetry. *J Med Eng Technol* 1990;14:178–181.
243. Olsen AK, Bladbjerg EM, Jensen AL, Hansen AK. Effect of pre-analytical handling on haematological variables in minipigs. *Lab Anim* 2001;35:147–152.
244. Ostadal B, Netuka I, Maly J, Besik J, Ostadalova I. Gender differences in cardiac ischemic injury and protection—experimental aspects. *Exp Biol Med (Maywood)* 2009;234:1011–1019.
245. Owens ML, Bower RW. Physiology of Arteriovenous Fistulas. In: Wilson, SE, Owens ML, editors. *Vascular access surgery*. Chicago: Year Book Medical Publishers; 1980. pp. 101–114.
246. Pampal A, Ozen IO, Ekingen G, Demirogullari B, Helvacioglu F, Take G. The morphological evaluation of ipsilateral and contralateral vasa deferentia in a rat model of unilateral spermatic cord torsion. *Pediatr Surg Int* 2010;26:287–292.
247. Pasini EM, Kirkegaard M, Mortensen P, Lutz HU, Thomas AW, Mann M. In-depth analysis of the membrane and cytosolic proteome of red blood cells. *Blood* 2006;108:791–801.
248. Pautard B, Feo C, Dhermy D, Wajcman H, Baudin-Chich V, Delobel J. Occurrence of hereditary spherocytosis and beta thalassaemia in the same family: globin chain synthesis and visco diffractometric studies. *Br J Haematol* 1988;70:239–245.
249. Pehlivanoglu B, Dikmenoglu N, Balkanci DZ. Effect of stress on erythrocyte deformability, influence of gender and menstrual cycle. *Clin Hemorheol Microcirc* 2007;37:301–308.
250. Peto K, Nemeth N, Brath E, Takacs EI, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, Miko I. The effects of renal ischemia-reperfusion on hemorheological factors: preventive role of allopurinol. *Clin Hemorheol Microcirc* 2007;37:347–358.

251. Pfafferoth C, Nash GB, Meiselman HJ. Red blood cell deformability in shear flow. Effects of internal and external phase viscosity and of in vivo aging. *Biophys J* 1985;47:695–704.
252. Pfafferoth C, Wenby R, Meiselman HJ. Morphologic and internal viscosity aspects of RBC rheologic behavior. *Blood Cells* 1982;8:65–78.
253. Plasenzotti R, Stoiber B, Posch M, Windberger U. Red blood cell deformability and aggregation behaviour in different animal species. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;31:105–111.
254. Plotnikova AM, Shulgau ZT, Plotnikova TM, Aliev OI, Borovskaya TG. Hyperviscosity syndrome in ovariectomized rats. *Bull Exp Biol Med* 2008;146:92–95.
255. Popel AS, Johnson PC, Kameneva MV, Wild MA. Capacity for red blood cell aggregation is higher in athletic mammalian species than in sedentary species. *J Appl Physiol* 1994;77:1790–1794.
256. Popel AS, Johnson PC. Microcirculation and hemorheology. *Ann Rev Fluid Mech* 2005;37:43–69.
257. Pries AR, Secomb TW. Rheology of the microcirculation. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003;29:143–148.
258. Rampling MW. History of hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 3–17.
259. Rayner HC, Pisoni RL, Gillespie BW, Goodkin DA, Akiba T, Akizawa T, Saito A, Young EW, Port FK. Creation, cannulation and survival of arteriovenous fistulae: data from the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney Int* 2003;63:323–330.
260. Reffellmann T, Kloner RA. The „no-reflow” phenomenon: basic science and clinical correlates. *Heart* 2002;87:162–168.
261. Reinhart WH, Chien S. Red cell rheology in stomatocyte-echinocyte transformation: roles of cell geometry and cell shape. *Blood* 1980;67:1110–1118.
262. Reinhart WH, Gaudenz R, Walter R. Acidosis induced by lactate, pyruvate, or HCl increases blood viscosity. *Crit Care* 2002;17:38–42.
263. Reinhart WH, Piety NZ, Goede JS, Shevkoplyas SS. Effect of osmolality on erythrocyte rheology and perfusion of an artificial microvascular network. *Microvasc Res* 2015;98C:102–107.
264. Reinhart WH, Singh A. Erythrocyte aggregation: the roles of cell deformability and geometry. *Eur J Clin Invest* 1990;20:458–462.
265. Reinhart WH, Usami S, Schmalzer EA, Lee MM, Chien S. Evaluation of red blood cell filterability test: influences of pore size, hematocrit level, and flow rate. *J Lab Clin Med* 1984;104:501–516.
266. Robinson WP, Schanzer A, Li Y, Goodney PP, Nolan BW, Eslami MH, Cronenwett JL, Messina LM. Derivation and validation of a practical risk score for prediction of mortality after open repair of ruptured abdominal aortic aneurysms in a US regional cohort and comparison to existing scoring systems. *J Vasc Surg* 2013;57:354–361.
267. Rodriguez MG, Rival C, Theas MS, Lustig L. Immunohistopathology of the contralateral testis of rats undergoing experimental torsion of the spermatic cord. *Asian J. Androl.* 2006;8:576–583.
268. Rusch P, Hermann T, Geyssant A, Vasselon C, Healy JC. Influence of oxygen tensions, intracellular enzymes and hematological factors on RBC filterability. *Biorheology* 1981;18:493–508.
269. Rutherford R. Graft thrombosis. In: *Vascular surgery*, Rutherford R (szerk). 5th Edition. Saunders, Philadelphia, USA, 2000. pp. 719–725.
270. Salazar BY, Vazquez J, Martini A, Chavez Negrete, Tsai AG, Forconi S, Cabrales P, Johnson PC, Intaglietta M. Cardiovascular benefits in moderate increases of blood and plasma viscosity surpass those associated with lowering viscosity: Experimental and clinical evidence. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;44:75–85.
271. Saldanha C. Fibrinogen interaction with the red blood cell membrane. *Clin Hemorheol Microcirc* 2013;53:39–44.

272. Sandza JG Jr, Clark RE, Weldon CS, Sutera SP. Subhemolytic trauma of erythrocytes: recognition and sequestration by the spleen as a function of shear. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1974;20B:457–462.
273. Sarnesto A, Linder N, Raivio KO. Organ distribution and molecular forms of human xanthine dehydrogenase/xanthine oxidase protein. *Lab Invest* 1996;74:48–56.
274. Schaller B. Physiology of cerebral venous blood flow: from experimental data in animals to normal functions in humans. *Brain Res Rev* 2004;46:243–260.
275. Schmalzer EA, Skalak R, Usami S, Vayo M, Chien S. Influence of red cell concentration on filtration of blood cell suspension. *Biorheology* 1983;20:29–40.
276. Schmid-Schönbein H, Malotta H, Striesow F. Erythrocyte aggregation: causes, consequences and methods for assessment. *Tijdschr NVKC* 1990;15:88–97.
277. Schmid-Schönbein H, Wells R. Fluid drop-like transition of erythrocytes under shear. *Science* 1969;165:288–291.
278. Schmid-Schönbein H. Fluid dynamics and hemorheology in vivo: the interactions of hemodynamic parameters and hemorheological “properties” in determining the flow behavior of blood in microvascular networks. In: *Clinical Blood Rheology*, Lowe GDO ed. CRC Press, FL, 1988, pp. 129–219.
279. Schmid-Schönbein H. Macrorheology and microrheology of blood in cerebrovascular insufficiency. *Eur Neurol* 1983;22(Suppl 1):2–22.
280. Schmidt EH, Holzgreve W, Beller FK. Effects of castration, exogenous testosterone and estrogen on endotoxin response in male rats. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* 1987;25:347–353.
281. Schultheisz E. (szerk.). *Orvostörténelem. SOTE Egyetemi jegyzet*, Budapest, 1992.
282. Scott MD, Kuypers FA, Butikofer P, Bookchin RM, Ortiz OE, Lubin BH. Effect of osmotic lysis and resealing on red cell structure and function. *J Lab Clin Med* 1990;115:470–480.
283. Seale JV, Wood SA, Atkinson HC, Bate E, Lightman SL, Ingram CD, Jessop DS, Harbuz MS. Gonadectomy reverses the sexually diergic patterns of circadian and stress-induced hypothalamic-pituitary-adrenal axis activity in male and female rats. *J Neuroendocrinol* 2004;16:516–524.
284. Sharp WJ, Bashir M, Word R, Nicholson R, Bunch C, Corson J, Kresowik T, Hoballah J. Suprarenal clamping is a safe method of aortic control when infrarenal clamping is not desirable. *Ann Vasc Surg* 2008;22:534–540.
285. Shevkoplyas SS, Yoshida T, Gifford SC, Bitensky MW. Direct measurement of the impact of impaired erythrocyte deformability on microvascular network perfusion in a microfluidic device. *Lab Chip* 2006;6:914–920.
286. Shi J, Bui JD, Yang SH, He Z, Lucas TH, Buckley DL, Blackband SJ, King MA, Day AL, Simpkins JW. Estrogens decrease reperfusion-associated cortical ischemic damage. An MRI analysis in a transient focal ischemia model. *Stroke* 2001;32:987–992.
287. Shin S, Ku Y, Park MS, Suh JS. Slit-flow ektacytometry: laser diffraction in a slit rheometer. *Cytometry Part B (Clinical Cytometry)* 2005;65:6–13.
288. Simmonds MJ, Baskurt OK, Meiselman HJ, Marshall-Gradisnik SM. A comparison of capillary and venous sampling methods for the use in haemorheology studies. *Clin Hemorheol Microcirc* 2011;47:111–119.
289. Simmonds MJ, Meiselman HJ, Marshall-Gradisnik SM, Pyne M, Kakanis M, Keane J, Brenu E, Christy R, Baskurt OK. Assessment of oxidant susceptibility of red blood cells in various species based on cell deformability. *Biorheology* 2011;48:293–304.
290. Son KH, Lim CH, Song EJ, Sun K, Son HS, Lee SH. Inter-species hemorheologic differences in arterial and venous blood. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;44:27–33.
291. Song X, Li G, Vaagez J, Valen G. Effects of sex, gonadectomy, and oestrogen substitution on ischaemic preconditioning and ischaemia-reperfusion injury in mice. *Acta Physiol Scand* 2003;177:459–466.
292. Spengler MI, Goni GM, Mengarelli G, Bravo Luna M, Bocanera R, Tozzini R, Rasia ML. Effect of hormone replacement therapy upon haemorheological variables. *Clin Hemorheol Microcirc* 2003;28:13–19.

293. Stadler AA, Zilow EP, Linderkamp O. Blood viscosity and optimal hematocrit in narrow tubes. *Biorheology* 1990;27:779–788.
294. Starodubtseva MN, Tattersall AL, Kuznetsova TG, Yegorenkov NI, Ellory JC. Structural and functional changes in the membrane and membrane skeleton of red blood cells induced by peroxynitrite. *Bioelectrochemistry* 2008;73:155–162.
295. Stern MD. In vivo evaluation of microcirculation by coherent light scattering. *Nature* 1975;254:56–58.
296. Stoltz JF, Singh M, Riha P, eds. *Hemorheology in Practice*, IOS Press, Amsterdam, 1999, pp. 9–52.
297. Stookey JD, Klein A, Hamer J, Chi C, Higa A, Ng V, Arieff A, Kuypers FA, Larkin S, Perrier E, Lang F. RBC deformability and amino acid concentrations after hypo-osmotic challenge may reflect chronic cell hydration status in healthy young men. *Physiol Rep* 2013;1:e00117.
298. Stuart J, Stone PCW, Freyburger G, Boisseau MR, Altman DG. Instrument precision and biological variability determine the number of patients required for rheological studies. *Clin Hemorheol* 1989;9:181–197.
299. Stuart J. Erythrocyte rheology. *J Clin Pathol* 1985;38:965–977.
300. Stupka N, Tiidus PM. Effects of ovariectomy and estrogen on ischemia-reperfusion injury in hindlimbs of female rats. *J Appl Physiol* 2001;91:1828–1835.
301. Suzuki S, Hayashi Y, Matsuno K, Moriyama T, Suzuki G. Blood rheology and risk of thromboembolism in adult and climacteric women. *Semin. Thromb. Hemost.* 2005;31:281–283.
302. Svetina S. Red blood cell shape and deformability in the context of the functional evolution of its membrane structure. *Cell Mol Biol Lett* 2012;17:171–181.
303. Syfuss PY, Ciupea A, Brahimi S, Cynober T, Stewart GW, Grandchamp B, Beaumont C, Tchernia G, Delaunay J, Wagner JC. Mild dehydrated hereditary stomatocytosis revealed by marked hemosiderosis. *Clin Lab Haematol* 2006;28:270–274.
304. Szabó A, Vollmar B, Boros M, Menger MD. Gender differences in ischemia-reperfusion-induced microcirculatory and epithelial dysfunction in the small intestine. *Life Sci* 2006;78:3058–3065.
305. Szokoly M, Németh N, Furka I, Mikó I. Hematological and hemostaseological alterations after warm and cold limb ischemia-reperfusion in a canine model. *Acta Cir Bras* 2009;24:338–346.
306. Tanyel FC, Buyukpamukcu N, Hicsonmez A. Contralateral testicular blood flow during unilateral testicular torsion. *Br J Urol* 1989;63:522–524.
307. Tatterton M, Wilshaw SP, Ingham E, Homer-Vanniasinkam S. The use of antithrombotic therapies in reducing synthetic small-diameter vascular graft thrombosis. *Vasc Endovascular Surg* 2012;46:212–222.
308. Thurston GB, Henderson NM. Viscoelasticity of human blood. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 72–90.
309. Tomaiuolo G. Biomechanical properties of red blood cells in health and disease towards microfluidics. *Biomicrofluidics* 2014;8:051501.
310. Tóth K, Juricskay I. Rheologiai alapfogalmak. In: *A klinikai haemorheologia alapjai*, Bernát SI, Pongrácz E, szerk, Kornétás Kiadó, Budapest, 1999, pp. 13–24.
311. Tóth K, Késmárky G, Alexy T. Clinical significance of hemorheological alterations. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 392–432.
312. Tozzi-Ciancarelli MG, Di Massimo C, Mascioli A. Aging of human erythrocytes: the role of membrane perturbations induced by in vitro ATP-depletion. *Cell Mol Biol* 1992;38:303–310.
313. Turner TT, Bang HJ, Lysiak JJ. Experimental testicular torsion: reperfusion blood flow and subsequent testicular venous plasma testosterone concentrations. *Urology* 2005;65:390–394.
314. Turner TT, Brown KJ. Spermatogenic cord torsion: loss of spermatogenesis despite return of blood flow. *Biol Reprod* 1993;49:401–407.
315. Turner TT, Tung KSK, Tomomasa H, Wilson LW. Acute testicular ischemia results in germ cell-specific apoptosis in the rat. *Biol. Reprod.* 1997;57:1267–1274.
316. Turner TT. Acute experimental testicular torsion. No effect on the contralateral testis. *Androl* 1985;6:65–72.

317. Udden MM. In vitro sub-hemolytic effects of butoxyacetic acid on human and rat erythrocytes. *Toxicol Sci* 2002;69:258–264.
318. Udden MM. Rat erythrocyte morphological changes after gavage dosing with 2-butoxyethanol: a comparison with the in vitro effects of butoxyacetic acid on rat and human erythrocytes. *J Appl Toxicol* 2000;20:381–387.
319. Ulker P, Sati L, Celik-Ozenci C, Meiselman HJ, Baskurt OK. Mechanical stimulation of nitric oxide synthesizing mechanisms in erythrocytes. *Biorheology* 2009;46:121–132.
320. Usami S, Chien S, Gregersen MI. Viscometric characteristic of blood of the elephant, man, dog, sheep, and goat. *Am J Physiol* 1969;217:884–890.
321. Uyuklu M, Meiselman HJ, Baskurt OK. Effect of hemoglobin oxygenation level on red blood cell deformability and aggregation parameters. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;41:179–188.
322. van Zutphen LFM, Baumans V, Beynen AC. *Principles of Laboratory Animal Science*. Elsevier, Amsterdam, 2001.
323. vanWijk R, van Solinge WW. The energy-less red blood cell is lost: erythrocyte enzyme abnormalities of glycolysis. *Blood* 2005;106:4034–4042.
324. Vaya A, Chorro P, Julia D, Falco C, Ortega L, Corella D, Aznar J. Menopause, hormone replacement therapy and hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;30:277–281.
325. Vega VL, Mardones L, Maldonado M, Nicovani S, Manriquez V, Roa J, Ward PH. Xanthine oxidase released from reperfused hind limbs mediate Kupffer cell activation, neutrophil sequestration, and hepatic oxidative stress in rats subjected to tourniquet shock. *Shock* 2000;14:565–571.
326. Velcheva I, Antonova N, Titianova E, Damianov P, Dimitrov N, Dimitrova V. Hemorheological disturbances in cerebrovascular diseases. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;39:391–396.
327. Viallat A, Abkarian M. Red blood cell: from its mechanics to its motion in shear flow. *Int J Lab Hematol* 2014;36:237–243.
328. Vigueras RM, Reyes G, Rojas-Castaneda J, Rojas P, Hernandez R. Testicular torsion and its effects on the spermatogenic cycle in the contralateral testis of the rat. *Lab Anim* 2004;38:313–320.
329. Vollmar B, Menger M. Intestinal ischemia/reperfusion: microcirculatory pathology and functional consequences. *Langenbecks Arch Surg* 2011;396:13–29.
330. Wahlberg E, Dimuzio PJ, Stoney RJ. Aortic clamping during elective operations for infrarenal disease: The influence of clamping time on renal function. *J Vasc Surg* 2002;36:13–18.
331. Wahlgren CM, Piano G, Desai T, Shaalan W, Bassiouny H. Transperitoneal versus retroperitoneal suprarenal cross-clamping for repair of abdominal aortic aneurysm with a hostile infrarenal aortic neck. *Ann Vasc Surg* 2007;21:687–694.
332. Wandersee NJ, Birkenmeier CS, Gifford EJ, Mohandas N, Barker JE. Murine recessive hereditary spherocytosis, sph/sph, is caused by a mutation in the erythroid alpha-spectrin gene. *Hematol J* 2000;1:235–242.
333. Ward PA, Warren JS, Johnson KJ. Oxygen radicals, inflammation, and tissue injury. *Free Radic Biol Med* 1988;5:403–408.
334. Waugh RE, Narla M, Jackson CW, Mueller TJ, Suzuki T, Dale GL. Rheologic properties of senescent erythrocytes: loss of surface area and volume with red blood cell age. *Blood* 1992;79:1351–1358.
335. Weed RI, LaCelle PL, Merrill EW. Metabolic dependence of red cell deformability. *J Clin Invest* 1969;48:795–809.
336. Weigand K, Brost S, Steinebrunner N, Büchler M, Schemmer P, Müller M. Ischemia/reperfusion injury in liver surgery and transplantation: pathophysiology. *HPB Surgery* 2012;2012:176723.
337. Wells RE Jr. Rheology of blood in the microvasculature. *N Engl J Med* 1964;270:832–839.
338. Welsh P, Woodward M, Rumley A, Lowe G. Associations of plasma pro-inflammatory cytokines, fibrinogen, viscosity and C-reactive protein with cardiovascular risk factors and social deprivation: the fourth Glasgow MONICA study. *Br J Haematol* 2008;141:852–861.
339. Whitmore RL. The dynamics of the circulation. In: *Rheology of the circulation*, Pergamon Press, Oxford, UK, 1968, pp. 62–108.

340. Whittaker SRF, Winton FR. The apparent viscosity of blood flowing in the isolated hindlimb of the dog and its variation with corpuscular concentration. *J Physiol* 1933;78:339–368.
341. Wiewiora M, Sosada K, Slowinska L, Piecuch J, Gluck M, Zurawinski W, Turczynski B. Sex-dependent differences in rheological properties and the relation of blood viscosity to erythrocyte aggregation indices among morbidly obese patients. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;44:259–267.
342. Windberger U, Bartholovitsch A, Plasenzotti R, Korak KJ, Heinze G. Whole blood viscosity, plasma viscosity and erythrocyte aggregation in nine mammalian species: reference values and comparison of data. *Exp Physiol* 2003;88:431–440.
343. Windberger U, Baskurt OK. Comparative hemorheology. In: *Handbook of Hemorheology and Hemodynamics*, Baskurt OK, Hardeman MR, Rampling MW, Meiselman HJ, eds. IOS Press, Amsterdam, 2007, pp. 267–285.
344. Wu X, Siegemund M, Seeberger M, Studer W. Systemic and mesenteric hemodynamics, metabolism, and intestinal tonometry in a rat model of supraceliac aortic cross-clamping and declamping. *J Cardiothorac Vasc Anesth* 1999;13:707–714.
345. Wu Y, Huang YX, Kang LL, Wu ZJ, Luo M. Effect of pH on molecular constitution and distribution of hemoglobin in living erythrocyte. *Biopolymers* 2010;93:348–354.
346. Yalcin O, Wang Q, Johnson PC, Palmer AE, Cabrales P. Plasma expander viscosity effects on red cell-free layer thickness after moderate hemodilution. *Biorheology* 2011;48:277–291.
347. Yamamoto A, Niimi H. Effect of high osmotic media on blood viscosity and red blood cell deformability. *Biorheology* 1983;20:615–622.
348. Yao CC, Zha ZG. Effects of incubation pH on the membrane deformation of a single living human red blood cell. *Curr Appl Physics* 2007;7(Suppl 1):e11–e14.
349. Yasuda T, Funakubo A, Miyawaki F, Kawamura T, Higami T, Fukui Y. Influence of static pressure and shear rate on hemolysis of red blood cells. *ASAIO J* 2001;47:351–353.
350. Yeung KK, Richir M, Hanrath P, Teerlink T, Kompanowska-Jezierska E, Musters RJ, van Leeuwen PA, Wisselink W, Tangelder GJ. Infra renal aortic-clamping after renal ischaemia aggravates acute renal failure. *Eur J Clin Invest* 2011;41:605–615.
351. Yilmaz F, Gundogdu MY. A critical review on blood flow in large arteries; relevance to blood rheology, viscosity models, and physiologic conditions. *Korea-Aust Rheol J* 2008;20:197–211.
352. Zeltser D, Rogowski O, Berliner S, Mardi T, Justo D, Serov J, Rozenblat M, Avitzour D, Shapira I. Sex differences in the expression of haemorheological determinants in individuals with atherothrombotic risk factors and in apparently healthy people. *Heart* 2004;90:277–281.
353. Zhai P, Eurell TE, Cotthaus R, Jeffery EH, Bahr JM, Gross DR. Effect of estrogen on global myocardial ischemia-reperfusion injury in female rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2000;279:H2766–H2775.
354. Zhang J, Zhang X, Wang N, Fan Y, Ju H, Yang J, Wen J, Qu X. What is the maximum duration to perform the hemorheological measurement for the human and mammals. *Clin. Hemorheol. Microcirc.* 2004;31:157–160.



## 11.2. Az értekezés alapjául szolgáló saját közlemények

1. **Németh N**, Lesznyák T, Szokoly M, Bráth E, Pető K, Szabó G, Gulyás A, Kiss F, Imre S, Furka I, Mikó I: A haemorheologiai vizsgálatok jelentősége kísérletes végtagi ischaemia-reperfüziós károsodások kapcsán. Magyar Sebészet 2005;58(2): 144-147.  
IF: - Citáció: 2; független: 1
2. **Németh N**, Soukup J, Menzel M, Henze D, Clausen T, Rieger A, Holz C, Scharf A, Hanisch F, Furka I, Mikó I: Local and systemic hemorheological effects of cerebral hyper- and hypoperfusion in a porcine model. Clin Hemorheol Microcirc 2006;35(1-2):59-65.  
IF: 1,242 Citáció: 13; független: 7
3. **Németh N**, Gulyás A, Bálint A, Pető K, Bráth E, Kiss F, Furka I, Baskurt OK, Mikó I: Measurement of erythrocyte deformability and methodological adaptation for small-animal microsurgical models. Microsurgery 2006;26(1):33-37.  
IF: 0,882 Citáció: 9; független: 4
4. Szokoly M, **Németh N**, Hamar J, Furka I, Mikó I: Early systemic effects of hind limb ischemia-reperfusion on hemodynamics and acid-base balance in the rat. Microsurgery 2006;26(8):585-589.  
IF: 0,882 Citáció: 11; független: 3
5. **Németh N**, Alexy T, Furka A, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, Mikó I: Inter-species differences in hematocrit to blood viscosity ratio. Biorheology 2009;46(2):155-165.  
IF: 1,279 Citáció: 25; független: 12
6. **Németh N**, Baskurt OK, Meiselman HJ, Kiss F, Uyuklu M, Hevér T, Sajtos E, Kenyeres P, Tóth K, Furka I, Mikó I: Storage of laboratory animal blood samples causes hemorheological alterations: Inter-species differences and the effects of duration and temperature. Korea-Aust Rheol J 2009;21(2):127-133.  
IF: 0,965 Citáció: 24; független: 10
7. **Németh N**, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, Mikó I: Hemorheological measurements in experimental animals: Further consideration of cell size - pore size relations in filtrometry. Korea-Aust Rheol J 2009;21(3):155-160.  
IF: 0,965 Citáció: 5; független: -
8. Baskurt OK, Hardeman MR, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, **Németh N**, Shin S, Alexy T, Meiselman HJ. Comparison of three commercially available ektacytometers with different shearing geometries. Biorheology 2009;46(3):251-264.  
IF: 1,279 Citáció: 34; független: 23
9. Baskurt OK, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, **Németh N**, Alexy T, Shin S, Hardeman MR, Meiselman HJ. Comparison of three instruments for measuring red blood cell aggregation. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009;43(4):283-298.  
IF: 1,78 Citáció: 21; független: 8
10. Uyuklu M, Cengiz M, Ulker P, Hevér T, Tripette J, Connes P, **Németh N**, Meiselman HJ, Baskurt OK: Effects of storage duration and temperature of human blood on red cell deformability and aggregation. Hemorheol Microcirc 2009;41(4):269-278.  
IF: 1,78 Citáció: 27; független: 18

11. Baskurt OK, Hardeman MR, Uyuklu M, Ulker P, Cengiz M, **Németh N**, Shin S, Alexy T, Meiselman HJ. Parameterization of red blood cell elongation index-shear stress curves obtained by ektacytometry. *Scand J Clin Lab Invest* 2009;69(7):777-788.  
IF: 1,38 Citáció: 48; független: 24
12. **Németh N**, Baskurt OK, Meiselman HJ, Mikó I: Species-specific effects of anticoagulants on red blood cell deformability. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;43(3):257-259.  
IF: 1,78 Citáció: 9; független: 2
13. Tamás R, **Németh N**, Bráth E, Sásvári M, Nyakas C, Debreczeni B, Mikó I, Furka I: Hemorheological, morphological, and oxidative changes during ischemia-reperfusion of latissimus dorsi muscle flaps in a canine model. *Microsurgery* 2010;30(4):282-288.  
IF: 1,555 Citáció: 17; független: 13
14. Bráth E, **Németh N**, Kiss F, Sajtos E, Hevér T, Mátyás L, Tóth L, Mikó I, Furka I: Changes of local and systemic hemorheological properties in intestinal ischemia-reperfusion injury in the rat model. *Microsurgery* 2010;30(4):321-326.  
IF: 1,555 Citáció: 10; független: 5
15. Hevér T, Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, **Németh N**: Are there arterio-venous differences of blood micro-rheological variables in laboratory rats? *Korea-Aust Rheol J* 2010;22(1):59-64.  
IF: 0,948 Citáció: 6; független: 3
16. Hevér T, **Németh N**, Bráth E, Tóth L, Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, Szaszko J, Drimba L, Peitl B, Csiki Z, Mikó I, Furka I: Morphological, hemodynamical and hemorheological changes of mature artificial saphenous arterio-venous shunt in the rat model. *Microsurgery* 2010;30(8):649-656.  
IF: 1,555 Citáció: 6; független: 3
17. Kiss F, Sajtos E, Mátyás L, Magyar Zs, Furka I, Mikó I, **Németh N**: Testing red blood cell deformability of laboratory animals by slit-flow ektacytometry in various viscosity media: inter-species and gender differences. *Korea-Aust Rheol J* 2010;22(2):113-118.  
IF: 0,948 Citáció: 7; független: 1
18. **Németh N**, Kiss F, Furka I, Mikó I: Gender differences of blood rheological parameters in laboratory animals. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;45(2-4):263-272.  
IF: 2,838 Citáció: 21; független: 12
19. **Németh N**: A haemorheologia jelentősége az állatkísérletekben és lehetséges kapcsolata az állatorvos-tudományhoz. *Magyar Állatorvosok Lapja* 2011;133(10): 612-619.  
IF: 0,201 Citáció: 4 ; független: -
20. **Németh N**, Kiss F, Hevér T, Bráth E, Sajtos E, Furka I, Mikó I: Hemorheological consequences of hind limb ischemia-reperfusion differ in normal and gonadectomised male and female rats. *Clin Hemorheol Microcirc* 2012;50(3):197-211.  
IF: - Citáció: 10; független: 7
21. **Németh N**, Kiss F, Magyar Zs, Miszti-Blasius K, Furka I: Following-up hemorheological consequences of gonadectomy in male and female rats. *Clin Hemorheol Microcirc* 2012;50(4):231-243.  
IF: - Citáció: 4; független: 3

22. **Németh N**, Mikó I, Furka A, Kiss F, Furka I, Koller Á, Szilasi M: Concerning the importance of changes in hemorheological parameters caused by acid-base and blood gas alterations in experimental surgical models. Clin Hemorheol Microcirc 2012;51(1):43-50.  
IF: - Citáció: 15; független: 7
23. Klárik Z, Kiss F, Mikó I, **Németh N**: Aorto-porto-caval micro-rheological differences of red blood cells in laboratory rats: further deformability and ektacytometrial osmoscan data. Clin Hemorheol Microcirc 2013;53(3):217-229.  
IF: 2,215 Citáció: 6; független: 1
24. **Németh N**, Kiss F, Furka I, Mikó I: A haemorheologiai vizsgálatok kísérletes sebészeti vonatkozásairól. Magyar Sebészet 2013;66(3):161-165.  
IF: - Citáció: 7; független: 2
25. **Németh N**, Kiss F, Klárik Z, Mikó I: Comparative osmotic gradient ektacytometry data on inter-species differences of experimental animals, Clin Hemorheol Microcirc 2014;57(1):1-8.  
IF: 2,242 Citáció: 10; független: 6
26. Tóth Cs, Kiss F, Klárik Z, Gergely E, Tóth E, Pető K, Ványolos E, Mikó I, **Németh N**: Following-up changes in red blood cell deformability and membrane stability in the presence of PTFE graft implanted into the femoral artery in a canine model. Korea-Aust Rheol J 2014;26(2):209-215.  
IF: 0,875 Citáció: 2 ; független: 1
27. Tóth Cs, Klárik Z, Kiss F, Tóth E, Hargitai Z, **Németh N**: Early postoperative changes in hematological, erythrocyte aggregation and blood coagulation parameters after unilateral implantation of polytetrafluoroethylene vascular graft in the femoral artery of beagle dogs. Acta Cir Bras 2014;29(5):320-327.  
IF: 0,661 Citáció: 2; független: 2
28. **Németh N**, Kiss F, Klárik Z, Pető K, Ványolos E, Tóth L, Mikó I, Furka I: Testicular ischemia-reperfusion may alter micro-rheological parameters in laboratory rats. Clin Hemorheol Microcirc 2014;57(3):243-253.  
IF: 2,242 Citáció: 5; független: -
29. **Németh N**, Furka I, Mikó I: Hemorheological changes in ischemia-reperfusion: an overview on our experimental surgical data. Clin Hemorheol Microcirc 2014;57(3):215-225.  
IF: 2,242 Citáció: 13; független: 9
30. **Németh N**, Kiss F, Klárik Z, Tóth E, Mester A, Furka I, Mikó I: Simultaneous investigation of hemodynamic, microcirculatory and arterio-venous micro-rheological parameters in infrarenal or suprarenal aortic cross-camplng model in the rat. Clin Hemorheol Microcirc 2014;57(4):339-353.  
IF: 2,242 Citáció: - ; független: -
31. **Németh N**, Kiss F, Miszti-Blasius K: Interpretation of osmotic gradient ektacytometry (osmoscan) data: A comparative study for methodological standards. Scand J Clin Lab Invest. 2015;75(3):213-222.  
IF: 1,899 Citáció: 2 ; független: 2

32. Kiss F, Klárik Z, Tóth E, Pető K, Mikó I, **Németh N**: The investigation of inter-species diversity of erythrocyte aggregation properties by two different photometric methods in four animal species, *J Anim Physiol Anim Nutr (Berl)* 2015;99(6):1074-1083.  
IF: 1,406 Citáció: 2 ; független: 2
33. Kiss F, Tóth E, Misztai-Blasius K, **Németh N**: The effect of centrifugation at various g force levels on micro-rheological properties of rat, dog, pig and human red blood cells. *Clin Hemorheol Microcirc* 2016;62(3):215-227.  
IF: 2,242 Citáció: 1; független: 1
34. **Németh N**, Sógor V, Kiss F, Ülker P: Interspecies diversity of erythrocyte mechanical stability at various combinations in magnitude and duration of shear stress, and osmolality. *Clin Hemorheol Microcirc* 2016 – *ePub ahead of print (2016. január 27.)*, doi: 10.3233/CH-152031  
IF: 2,242 Citáció: -; független: -

**Az értekezés alapjául szolgáló közlemények impakt faktor értéke összesen: 44,322**

**Az értekezés alapjául szolgáló közlemények citációi összesen: 378, ebből független: 192**

### 11.3. Az értekezésben nem szereplő saját közlemények

#### *Könyvfejezetek:*

1. **Németh N**, Tóth E, Nemes B: Agents targeting ischemia-reperfusion injury. In: Huifang C, Shiguang Q (szerk.), *Current Immunosuppressive Therapy in Organ Transplantation*. Hauppauge; New York: Nova Science Publishers, 2015. pp. 487-533.  
Citáció: -; független: -
2. Mikó I, **Németh N**, Furka I: Spleen autotransplantation in mice. In: Huifang C, Shiguang Q (szerk.), *Experimental Organ Transplantation*. Hauppauge; New York: Nova Science Publishers, 2013. pp. 107-120.  
Citáció: -; független: -

#### *In extenso közlemények:*

1. Mikó I, Bráth E, **Németh N**, Tóth FF, Sipka S, Kovács J, Sipka S Jr, Fachet J, Furka A, Furka I, Zhong R: Hematological, hemorheological, immunological, and morphological studies of spleen autotransplantation in mice: preliminary results. *Microsurgery* 2003;23(5):483-488. (*PhD értekezés alapjául szolgált, 2004*)  
IF: 0,711 Citáció: 19; független: 6
2. **Németh N**, Lesznyák T, Bráth E, Ács G, Nagy Á, Pap-Szekeres J, Furka I, Mikó I: Changes in microcirculation after ischemic process in rat skeletal muscle. *Microsurgery* 2003;23(5):419-423. (*PhD értekezés alapjául szolgált, 2004*)  
IF: 0,711 Citáció: 14; független: 8
3. **Németh N**, Ács G, Lesznyák T, Bráth E, Imre S, Urbán F, Menzel M, Furka I, Mikó I: A vörösvérsejtek deformabilitásáról nyert mérési tapasztalatok laboratóriumi állatfajokon. *Magyar Állatorvosok Lapja* 2004;126(4):225-230. (*PhD értekezés alapjául szolgált, 2004*)  
IF: 0,158 Citáció: 8; független: 2

4. Pap-Szekeres J, Cserni G, Furka I, Svébis M, Cserni T, Bráth E, **Németh N**, Mikó I: Transplantation and microsurgical anastomosis of free omental grafts: experimental animal model of a new operative technique in dogs. *Microsurgery* 2003;23(5):414-418.  
IF: 0,711 Citáció: 6; független: 4
5. Csízy I, Furka I, Cserni T, Józsa T, Oláh C, Pető K, **Németh N**, Mikó I: Szöveti microcirculatio mérése kísérletes ureter-neoimplantációk során. *Orvosi Hetilap* 2003;144(3):129-132.  
IF:- Citáció: 6; független: 1
6. Clausen T, Scharf A, Menzel M, Soukup J, Holz C, Rieger A, Hanisch F, Brath E, **Németh N**, Mikó I, Vajkoczy P, Radke J, Henze D: Influence of moderate and profound hyperventilation on cerebral blood flow, oxygenation and metabolism. *Brain Res* 2004;1019(1-2):113-123.  
IF: 2,389 Citáció: 38; független: 37
7. **Németh N**, Szokoly M, Ács G, Bráth E, Lesznyák T, Furka I, Mikó I: Systemic and regional hemorheological consequences of warm and cold hind limb ischemia-reperfusion in a canine model. *Clin Hemorheol Microcirc* 2004;30(2):133-145.  
IF: 0,63 Citáció: 22; független: 8
8. Cserni T, Szekeres JP, Furka I, **Németh N**, Józsa T, Mikó I: Hydrostatic characteristics of the ileocolic valve and intussuscepted nipple valves: an animal model. *J Invest Surg* 2005;18(4):185-191.  
IF: 0,857 Citáció: 5; független: 3
9. Pap-Szekeres J, Cserni G, Furka I, Svébis M, Cserni T, Bráth E, **Németh N**, Mikó I: A new concept for esophageal resection - prevascularization: an experimental study. *Dis Esophagus* 2005;18(4):274-280.  
IF: 0,936 Citáció: 4; független: 4
10. Mikó I, Serfőző J, Kappelmayer J, Sipka S, Furka A, Imre S, Galuska L, Kovács J, Bráth E, Pető K, **Németh N**, Furka I: Megmenthető-e a sérült lép? 20 év kutatási eredményei. 2005;58(2):69-73.  
IF: - Citáció: 6; független: 4
11. Bráth E, **Németh N**, Papp L, Békési L, Varga S, Tóth A, Mikó I, Furka I: Mikrosebészeti oktatás a kutatás és a klinikai gyakorlat szolgálatában. *Magyar Sebészet* 2005;58(2):111-115.  
IF: - Citáció: 5; független: 3
12. Pap-Szekeres J, Pető K, **Németh N**, Cserni G, Furka I, Svébis M, Cserni T, Bráth E, Mikó I: Extraabdominalisan átültetett cseplesz lebeny mikrocirkulációjának intraoperatív vizsgálata laser Doppler flowmetria segítségével kutyán. 2005;58(2):116-119.  
IF: - Citáció: 2; független: 1
13. Lesznyák T, **Németh N**, Bráth E, Pető K, Pekár G, Nagy D, Ács G, Dinya Z, Pap Szekeres J, Mikó I, Furka I: A vese neovascularizációja a nagycseplesz felhasználásával omentális angiogén faktor előkezeléssel. 2005;58(2):129-133.  
IF: - Citáció: 3; független: 3

14. Pető K, Oláh VA, Bráth E, **Németh N**, Gulyás A, Szilasi M, Sárvári M, Furka I, Mikó I: Ischaemia-reperfüsiós vesekárosodás és az Allopurinol védő hatásának kimutatása vizelet NAG követésével. 2005;58(2):134-137.  
IF: - Citáció: 6; független: 4
15. Szokoly M, **Németh N**, Bráth E, Ács G, Hamar J, Mikó I, Furka I: Kísérletes „funkcionális amputációs modell” lehetősége az ischaemia-reperfüsió tükrében. 2005;58(2):138-143.  
IF: - Citáció: 2; független: 1
16. Furka I, Bráth E, **Németh N**, Mikó I: Gondolatok a mikrosebészeti oktatásról. Mire volt elég az 5460 óra a mikrosebészeti alapoktatásban? Magyar Sebészet 2006;59(3):147-151.  
IF: - Citáció: 4; független: 3
17. Furka I, Bráth E, **Németh N**, Mikó I: Learning microsurgical suturing and knotting techniques: comparative data. Microsurgery 2006;26(1):4-7.  
IF: 0,882 Citáció: 21; független: 18
18. Mikó I, **Németh N**, Sipka S Jr, Bráth E, Pető K, Gulyás A, Furka I, Zhong R: Hemorheological follow-up after splenectomy and spleen autotransplantation in mice. Microsurgery 2006;26(1):38-42.  
IF: 0,882 Citáció: 18; független: 8
19. Sipka S Jr, Bráth E, Tóth FF, Fábíán Á, Krizsán C, Baráth S, Sipka S, **Németh N**, Bálint A, Furka I, Mikó I: Distribution of peripheral blood cells in mice after splenectomy or autotransplantation. Microsurgery 2006;26(1):43-49.  
IF: 0,882 Citáció: 11; független: 7
20. **Németh N**, Lesznyák T, Szokoly M, Furka I, Mikó I: Allopurinol prevents erythrocyte deformability impairing but not the hematological alterations after limb ischemia-reperfusion in rats. J Invest Surg 2006;19(1):47-56.  
IF: 1,107 Citáció: 28; független: 15
21. Alexy T, **Németh N**, Wenby RB, Bauersachs RM, Baskurt OK, Meiselman HJ: Effect of lanthanum on red blood cell deformability. Biorheology 2007;44(5-6):361-373.  
IF: 1,488 Citáció: 7; független: 6
22. Henze D, Menzel M, Soukup J, Scharf A, Holz C, **Németh N**, Hanisch F, Clausen T: Endothelin-1 and cerebral blood flow in a porcine model. J Clin Neurosci 2007;14(7):650-657.  
IF: 0,801 Citáció: 4; független: 4
23. Mikó I, Bráth E, **Németh N**, Furka A, Sipka S Jr, Pető K, Serfőző J, Kovács J, Imre S, Benkő I, Galuska L, Sipka S, Ács G, Furka I: Spleen autotransplantation. Morphological and functional follow-up after spleen autotransplantation in mice: a research summary. Microsurgery 2007;27(4):312-316.  
IF: 1,07 Citáció: 21; független: 13

24. **Németh N**: Microsurgery and music: Parallel ideas and philosophy? *Microsurgery* 2007;27(3):155-157.  
IF: 1,07 Citáció: 2; független: 1
25. Pető K, **Németh N**, Bráth E, Takács IE, Baskurt OK, Meiselman HJ, Furka I, Mikó I: The effects of renal ischemia-reperfusion on hemorheological factors: preventive role of allopurinol. *Clin Hemorheol Microcirc* 2007;37(4):347-358.  
IF: 0,977 Citáció: 20; független: 10
26. Soukup J, Rieger A, Holz C, Mikó I, **Németh N**, Menzel M: Temperature gradient between brain tissue and arterial blood mirrors the flow-metabolism relationship in uninjured brain: an experimental study. *Acta Anaesth Scand* 2007;51(7):872-879.  
IF: 1,719 Citáció: 3; független: 3
27. Furka A, **Németh N**, Gulyás A, Bráth E, Pető K, Takács EI, Furka I, Sápó P, Mikó I: Hemorheological changes caused by intermittent Pringle (Baron) maneuver in beagle canine model. *Clin Hemorheol Microcirc* 2008;40(3):177-189.  
IF: 1,814 Citáció: 15; független: 4
28. Cserni T, Paran S, Kanyári Z, O'Donnell AM, Kutasy B, **Németh N**, Puri P: New insights into the neuromuscular anatomy of the ileocecal valve. *Anat Rec* 2009;292(2):254-261.  
IF: 1,49 Citáció: 9; független: 9
29. Baskurt OK, Boynard M, Cokelet GC, Connes P, Cooke BM, Forconi S, Liao F, Hardeman MR, Jung F, Meiselman HJ, Nash G, **Németh N**, Neu B, Sandhagen B, Shin S, Thurston G, Wautier JL: New guidelines for hemorheological laboratory techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;42(2):75-97.  
IF: 1,78 Citáció: 271; független: 158
30. Connes P, **Németh N**, Meiselman HJ, Baskurt OK: Effect of tourniquet application during blood sampling on RBC deformability and aggregation: Is it better to keep it on? *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;42(4):297-302.  
IF: 1,78 Citáció: 3; független: 1
31. **Németh N**: Blood stream in the art: Thoughts on music and hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;41(4):221-227.  
IF: 1,78 Citáció: 1; független: 1
32. Szokoly M, **Németh N**, Furka I, Mikó I: Hematological and hemostaseological alterations after warm and cold limb ischemia-reperfusion in a canine model. *Acta Cir Bras* 2009;24(5):338-346.  
IF: 0,479 Citáció: 6; független: 3
33. Kiss F, **Németh N**, Sajtos E, Bráth E, Pető K, Baskurt OK, Furka I, Mikó I: Examination of aggregation of various red blood cell populations can be informative in comparison of splenectomy and spleen autotransplantation in animal experiments. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;45(2-4):273-280.  
IF: 2,838 Citáció: 4; független: 3

34. Sajtos E, **Németh N**, Kiss F, Bráth E, Pető K, Hevér T, Mátyás L, Furka I, Mikó I: Application of leukocyte antisedimentation rate calculation in investigation of spleen salvaging experimental surgical techniques. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;45(2-4):289-294.  
IF: 2,838 Citáció: 1; független: -
35. Mikó I, **Németh N**, Sajtos E, Bráth E, Pető K, Furka A, Szabó G, Kiss F, Imre S, Furka I: Splenic function and red blood cell deformability: The beneficial effects of spleen autotransplantation in animal experiments. *Clin Hemorheol Microcirc* 2010;45(2-4):281-288.  
IF: 2,838 Citáció: 8; független: 2
36. Kiss F, Sajtos E, Hevér T, **Németh N**: The power of slit-flow ektacytometry measurements for testing normal and heat treated red blood cells using various viscosity media in laboratory animals. *Korea-Aust Rheol J* 2010;22(1):81-86.  
IF: 0,948 Citáció: -; független: -
37. Alexy T, Baskurt OK, **Németh N**, Uyuklu M, Wenby RB, Meiselman HJ: Effect of lanthanides on red blood cell deformability and response to mechanical stress: Role of lanthanide ionic radius. *Biorheology* 2011;48(3-4):173-183.  
IF: 1,93 Citáció: 3; független: 1
38. Bráth E, Mikó I, **Németh N**, Kovács J, Pető K, Furka I: Effects of allopurinol and preconditioning on apoptosis due to ischemia-reperfusion on a double jejunum-segment canine model. *Acta Cir Bras* 2011;26(3):186-193.  
IF: 0,584 Citáció: 5; független: 5
39. Kotán R, **Németh N**, Kiss F, Posán J, Miszti-Blasius K, Tóth L, Furka I, Mikó I, Sápy P, Szentkereszty Zs: Micro-rheological changes during experimental acute pancreatitis in the rat. *Clin Hemorheol Microcirc* 2012;51(4):255-264.  
IF: - Citáció: 5; független: 4
40. Sajtos E, Bálint A, Bráth E, **Németh N**, Pető K, Kovács J, Galuska L, Varga J, Fodor Z, Furka I, Mikó I: Long-term following-up of viability of spleen autotransplants in the Beagle canine model. *Acta Cir Bras* 2012;27(2):95-101.  
IF: 0,626 Citáció: 6; független: 5
41. Furka I, **Németh N**, Mikó I.: A lép a sebészi kísérletek tükrében. *Magyar Sebészet* 2013;66(3):156-160.  
IF: - Citáció: -; független: -
42. Furka A, **Németh N**, Pető K, Szentkereszty Z, Tóth L, Furka I, Mikó I, Sápy P: Adatok a ligamentum hepatoduodenale időleges leszorítása által kiváltott májenzim- és szövettani változások vizsgálatához kísérletes modellen. *Magyar Sebészet* 2013;66(3):166-170.  
IF: - Citáció: -; független: -
43. Pető K, **Németh N**, Lesznyák T, Furka I, Mikó I: A DE OEC Sebészeti Műtéttani Tanszék oktatási tevékenységének főbb mutatói 2000-2013 között. *Magyar Sebészet* 2013;66(3):171-176.  
IF: - Citáció: -; független: -



44. Klárik Z, Tóth E, Kiss F, Furka I, Mikó I, **Németh N**: A modified microsurgical model for end-to-side selective portacaval shunt in the rat: intraoperative microcirculatory investigations. *Acta Cir Bras* 2013;28(9):625-631.  
IF: 0,57 Citáció: 2; független: 2
45. **Németh N**: Gondolatok a zene és az orvostudomány kapcsolatáról: Vérkeringés és a képszerű zenei kifejezőmód. *Danubius Noster* 2013;2:115-123.  
IF: - Citáció: -; független: -
46. **Németh N**, Furka I, Mikó I.: Educational and research activity of the Department of Operative Techniques and Surgical Research, Institute of Surgery at the Medical and Health Science Center, University of Debrecen in Hungary. *Acta Cir Bras* 2013;28(5):403-406.  
IF: 0,57 Citáció: 1; független: 1
47. **Németh N**, Kiss F, Pető K, Mikó I, Furka I: Experiences and concerns on teaching basics of hemorheology at the Department of Operative Techniques and Surgical Research in Debrecen, Hungary. *Clin Hemorheol Microcirc* 2014;58(4):555-558.  
IF: 2,242 Citáció: -; független: -
48. Szentkereszty Zs, Kotán R, Kiss F, Klárik Z, Pósn J, Furka I, Sáp P, Mikó I, Pető K, **Németh N**: Effects of various drugs (flunixin, pentoxifylline, enoxaparin) modulating micro-rheological changes in cerulein-induced acute pancreatitis in the rat. *Clin Hemorheol Microcirc* 2014;57(4):303-314.  
IF: 2,242 Citáció: 1; független: 1
49. Szluha K, Lazányi K, Furka A, Kiss F, Szabó I, Pintye É, Mikó I, **Németh N**: Early micro-rheological consequences of single fraction total body low-dose photon irradiation in mice. *Clin Hemorheol Microcirc* 2014;57(3):227-242.  
IF: 2,242 Citáció: 1; független: 1
50. Ványolos E, Pető K, Viszlai A, Mikó I, Furka I, **Németh N**, Orosi P: Usage of ultraviolet test method for monitoring the efficacy of surgical hand rub technique among medical students. *J Surg Educ* 2015;72(3): 530-535.  
IF: 1,379 Citáció: 1; független: 1
51. Kiss F, Molnár L, Hajdú E, Deák Á, Molnár Á, Berhész M, Szabó J, **Németh N**, Fülesdi B. Skin microcirculatory changes reflect early the circulatory deterioration in a fulminant sepsis model in the pig. *Acta Cir Bras* 2015;30(7):470-477.  
IF: 0,661 Citáció: -; független: -
52. Klárik Z, Tamás R, Tóth E, Kiss F, Kovács ÉL, Jäckel M, Furka I, **Németh N**: Intra- and postoperative evaluations of microcirculation and micro-rheological parameters in a rat model of musculocutaneous flap ischemia-reperfusion. *Acta Cir Bras* 2015;30(8):551-560.  
IF: 0,661 Citáció: -; független: -
53. **Németh N**, Berhész M, Kiss F, Hajdú E, Deák Á, Molnár Á, Szabó J, Fülesdi B: Early hemorheological changes in a porcine model of intravenously given *E. coli* induced fulminant sepsis. *Clin Hemorheol Microcirc* 2016;61(3):479-496.  
IF: 2,242 Citáció: 1; független: 1

54. Józsa T, Klárik Z, Kiss F, Tóth E, Mester A, Hargitai Z, Changchien YC, Fossum M, **Németh N**: Morphological and microcirculatory evaluation of the rat testis after detorsion with or without a capsular release with a tunica vaginalis flap. *Asian J Androl* 2016;18:462-466.  
IF: 2,596 Citáció: -; független: -
55. **Németh N**, Fülesdi B: Concerning hemorheological disturbances in sepsis. *De omnibus dubitandum est...* J Series on Biomechanics, 2016;30(1): - in press  
IF: - Citáció: -; független: -

*Szerkesztőségi közlemények (Editorial):*

1. Mikó I, Furka I, **Németh N**: Frontiers in microsurgery: the 7th Congress of the International Society for Experimental Microsurgery. *Microsurgery* 2006;26(1):38-42.  
IF: - Citáció: 3; független: -
2. **Németh N**: Crossroads of Experimental Microsurgery. A Preface to the Special Issue of the 9th Congress of the International Society for Experimental Microsurgery. *Microsurgery* 2010;30(4):253-255.  
IF: - Citáció: 1; független: -
3. **Németh N**: The common denominator is microsurgery. *Microsurgery* 2014;34(5):337-338.  
IF: - Citáció: -; független: -
4. **Németh N**: A tribute to the „Father” of Experimental Microsurgery, Professor Sun Lee (1920-2015). *Microsurgery* 2016;36(2):97-98.  
IF: - Citáció: 1; független: 1

*Proceedings könyvfejezet:*

1. Bráth E, Furka I, **Németh N**, Szabó Gy, Pető K, Ács G, Lesznyák T, Cserni T, Pap Szekeres J, Mikó I.: Changes in the deformability of red blood cells caused by mesenteric ischemia-reperfusion injury. An experimental animal study. In: Boros Mihály (szerk.), *Proceedings of the 37th Congress of the European Society for Surgical Research*. Szeged/Hungary, 23-25 May 2002. 409 p. Bologna: Monduzzi International Proceedings Division, 2002. pp. 281-284.

*Rövid közlemény:*

1. Mikó I, Furka A, Ács G, **Németh N**, Sipka S, Oláh AV, Bráth E, Furka I: Laboratory follow up of spleen autotransplants after experimental spleen injuries. *Eur Surg – Acta Chir Austr* 2002;34(Suppl 189):10-12.  
IF: - Citáció: 2; független: -

*Szerkesztői munka:*

1. Mikó I, **Németh N** (szerk.), *Tények és Képek Sebészeti Műtéttani Tanszék 2010/2011. tanév*. Debrecen: Debrecen University Press, 2011. 118 p.
2. Mikó I, Furka I, **Németh N** (szerk.), Sun Lee: *My Fifty Years of Microsurgical Organ Transplant Research*. Debrecen: Debrecen University Press, 2012. 110 p.

#### 11.4. Összefoglaló scientometriai adatok

Összesített impakt faktor: 98,363. Az MTA doktori értekezés alapját képező közleményeket közlő folyóiratok impakt faktor értéke összesen: 44,622. A PhD értekezés (2004) alapját adó közlemények impakt faktora összesen: 1,58. A PhD értekezésben nem szereplő első és utolsó szerzős közlemények impakt faktora összesen: 47,499.

Összes citáció: 1017, ebből független: 576. Disszertációk és egyéb idézők nélkül: 937, ebből független 525. A PhD értekezésben nem szereplő első és utolsó szerzős közlemények citációja összesen: 264, ebből független: 127.

Németh Norbert tudományos és oktatási munkásságának összefoglalása  
MTA V. Orvostudományi Osztály (2016.05.26.)

Tudományos és oktatási közlemények	Szám		Hivatkozások <sup>1</sup>	
	Összesen	Részletezve	Független	Összes
<b>I. Folyóiratcikk<sup>2</sup></b>	86	---	---	---
szakcikk, összefoglaló nemzetközi folyóiratban	---	68	500	877
szakcikk, összefoglaló, hazai idegen nyelvű	---	0	0	0
szakcikk, összefoglaló, magyar nyelvű	---	15	19	42
rövid közlemény	---	3	2	9
<b>II. Könyv</b>	2	---	---	---
<b>a) Szakkönyv, kézikönyv</b>	0	---	---	---
idegen nyelvű	---	0	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyv	---	0	0	0
<b>b) Szakkönyv, tankönyv szerkesztőként</b>	2	---	---	---
idegen nyelvű	---	1	---	---
magyar nyelvű	---	1	---	---
Felsőoktatási tankönyv	---	0	---	---
<b>III. Könyvrészlet</b>	2	---	---	---
idegen nyelvű	---	2	0	0
magyar nyelvű	---	0	0	0
Felsőoktatási tankönyvfejezet	---	0	0	0
<b>IV. Konferenciaközlemény<sup>3</sup></b>	1	---	0	0
<b>Oktatási közlemények összesen (II.-III.)</b>		<b>0</b>	<b>0</b>	<b>0</b>
<b>Tudományos és oktatási közlemények összesen (I-IV.)<sup>4</sup></b>	91	---	521	928
<b>V. További tudományos művek</b>	10	---	---	---
További tudományos művek, ide értve a nem teljes folyóiratcikkeket és a nem ismert lektoráltságú folyóiratokban megjelent teljes folyóiratcikkeket is	---	9	4	9
Szerkesztőségi levelezés, hozzászólások, válaszok	---	0	0	0
Jelentés, guideline	---	1	0	0
<b>VI. Idézett absztraktok<sup>5</sup></b>	0	---	0	0
<b>Idézettség száma<sup>1, 4</sup></b>	---	---	<b>525</b>	<b>937</b>
<b>Hirsch index<sup>1</sup></b>	<b>16</b>	---	---	---

<b>VII. Sokszerzős vagy csoportos (multicentrikus) közlemény</b>	0	---	---	---
<b>a) Szerző<sup>4</sup></b>	---	0	0	0
<b>b) Kollaborációs közreműködő<sup>4</sup></b>	---	0	0	0

<b>Speciális tudományometriai adatok</b>	<b>Adat</b>
Első szerzős folyóiratcikkek száma	26
Utolsó szerzős folyóiratcikkek száma	13
Az utolsó tudományos fokozat/cím (PhD) elnyerése utáni (2004 - ) teljes tudományos folyóiratcikkek száma	78
Magyar nyelven megjelent tudományos teljes folyóiratcikkek száma	15
Az utolsó 10 év (2006-2016) tudományos, teljes, lektorált folyóiratcikkeinek száma	69
idézések száma	802
A legmagasabb idézettségű közlemény idézettsége (az összes idézettség százalékában)	266 (28,39%)
WOS/Scopus azonosítóval idézettség	742
Folyóiratcikkek, 15-29 szerzővel	1

Megjegyzések:

Az MTMT nem tudja szolgáltatni a kérelmezőnek kizárólag külföldi intézményből publikált folyóiratcikkeinek számát és független hivatkozásainak számát. Ezeket az adatokat a pályázónak kell összegyűjtenie és feltöltenie a Doktori Tanács elektronikus rendszerébe.

<sup>1</sup> a disszertáció és egyéb típusú idézők nélkül

<sup>2</sup> lektorált, tudományos folyóiratban (részletek)

<sup>3</sup> konferenciaközlemény folyóiratban, könyvben, egyéb konferenciakötetben

<sup>4</sup> a sokszerzős és/vagy csoportos szerzőségű közlemények idézettsége nem számítható be az összes értékekbe, ezeket a speciális tudományometriai adatok között tünteti fel az összesítés

<sup>5</sup> Nem idézett absztrakt itt nem kerül be az összesítésbe.

## 12. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Őszinte köszönetemet szeretném kifejezni Prof. Dr. Mikó Irénnek és Prof. Dr. Furka Istvánnak (Debreceni Egyetem ÁOK Sebészeti Műtéttani Tanszék), akik nemcsak főnökeim, témavezetőim voltak, de tanítóim és szakmai utam folyamatos segítői, emberileg is támaszaim. Hivatali utódként sokat jelent számomra, hogy együtt dolgozunk tovább.

Sokat tanulhattam Prof. Dr. Antal Miklóstól (Debreceni Egyetem ÁOK Anatómia, Szövet- és Fejlődéstani Intézet), aki még hallgató koromban megszerettette velem az oktatást és a kutatást.

Köszönettel tartozom munkatársaimnak és a tudományos kutatásokban együttműködő kollegáknak: Dr. Pető Katalinnak, Dr. Takács E. Ildikónak, Dr. Lesznyák Tamásnak, Dr. Szokoly Miklósnak, Dr. Tamás Róbertnek, Dr. Furka Andreának és Dr. Bráth Endrének. Ph.D. hallgatóimnak: Dr. Hevér Tímeának, Dr. Kiss Ferencnek, Dr. Klárik Zoltánnak és Dr. Tóth Csaba Zsigmondnak. Köszönetet mondok a Debreceni Egyetem ÁOK Sebészeti Műtéttani Tanszék valamennyi munkatársának.

A haemorheologiai kutatások területén nyújtott segítségért köszönetemet fejezem ki a Magyar Haemorheologiai Társaságnak. A nemzetközi együttműködésben végzett további kutatásokat és elmélyült szakmai kapcsolatokat őszintén köszönöm Prof. Dr. Oguz K. Baskurt-nak (1956-2013, Antalya - Isztambul, Törökország) és Prof. Dr. Herbert J. Meiselman-nak (Los Angeles, USA).

A mikrosebészeti kutatások területén végzett kutatások, szakmai kapcsolatok és megbízatások létrejöttét szívből köszönöm Prof. Dr. Sun Lee-nek (1920-2015, San Diego, USA), Prof. Dr. Corradino Campisi-nek (Genova, Olaszország), Prof. Dr. Robert Zhong-nak (1946-2006, London/Ontario, Kanada) és Prof. Dr. Huifang Chen-nek (Montreal, Kanada).

Szóval nem fejezhető ki a hála és köszönet Szüleimnek és Nagymamámnak. Édesapám emlékét szeretettel őrizve köszönök Nekik mindent! Hálásan és sok szeretettel köszönöm Feleségem és két Kislányunk szeretét, türelmét és támogatását!

### **Támogatások, amelyek nélkül nem születhettek volna meg az eredmények (időrendben):**

ETT 6003/1/2001 (t.v.: Mikó I.), OMFB00430/2001 (t.v.: Mikó I.), OTKA M-4 041600 (t.v.: Furka I.),  
OTKA T-032571 (t.v.: Mikó I.), GVOP-3.2.1.-2004-04-0289/3.0 (t.v.: Furka I.)  
Kiegészítő Posztdoktori Ösztöndíj (KPÖ 0147/2006., Németh N.), Török-Magyar TéT (BILAT TR-03/2006.,  
t.v.: Mikó I.), Magyar Állami Eötvös Ösztöndíj (61/2007., Németh N.), OTKA K-67779 (t.v.: Mikó I.),  
OTKA F-68323 (t.v.: Németh N.), MTA Bolyai János Kutatási Ösztöndíj (2010-2013, Németh N.),  
DE OEC Bridging Fund 2012 (t.v.: Németh N.), Baross Gábor Program (OMFB-00411/2010., t.v.: Németh N.).

### 13. Addendum - Gondolatok a haemorheologia interdiszciplináris vonatkozásairól

Az oktató-kutatómunka mellett a zene művelése (zeneszerzés) részét képezi életemnek, ezért időről időre felmerültek a gondolatok, amelyek e két egészen eltérő (vagy mégis hasonló?) érdeklődési terület közötti kapcsolatra utaló okokat vagy magyarázatot keresik. Magyarázat vagy magyarázkodás gyanánt... A témában az utóbbi néhány évben magyar és idegen nyelvű esszék is megjelenhettek. Ezek képezik e hozzáadott fejezet alapját.

Az orvostudomány művelői és a művészetek, s főként a zene között évszázadok óta erős vonzalom, olykor szoros kötődés létezik. Önmagunk, környezetünk, kapcsolataink és világunk megismerésére és megértésére való törekvés egyidős az emberiséggel. A „miért”-ekre a válaszok keresése, az emberi test és lélek, a társadalmi folyamatok értelmezése örök mozgatóerőként hajtja a tudományt és a művészeteket, biztosítva azok előrehaladását, vagy akár önmagukba való visszatérését. Körforgás és állandó mozgás...

Miként kapcsolódik össze és hogyan válik szét a tudomány és a művészet? Összefüggései hogyan hatnak vagy hathatnak egymásra? Az életjelenségeink észlelése, megértése, pszichoszomatikus folyamatok megnyilvánulása hogyan jelenik meg a művészetekben és legfőképpen a zenében, amely talán a legkomplexebb módon fejt ki hatását az emberi érzelmekre? Miként hat maga a zene az életjelenségekre? Érdekes-e kapcsolatot keresni tudomány és művészet között? Ha igen, miért? Az esszé gondolatkörének tárgya azon lehetséges összefüggések számba vétele, esetleges kölcsönös egymásra hatásának elemzése, amelyek a vérkeringés és a zeneművészet kifejező erejű kapcsolatára vonatkozhatnak.

Az orvostudomány és a művészetek, azon belül is a zene mindig is szoros kapcsolatban állt egymással, amely relációkra filozofikus gondolatok, művészet- és tudománytörténeti adatok, esztétikai elemzések és az utóbbi évtizedekben tudományos evidenciák is igyekeztek magyarázatot adni.<sup>1,2,3,4,5</sup> Az orvoslás és a zene kapcsolata köznapi értelemben is ismert, elfogadott, azonban magyarázata, ok-okozati összefüggései mégsem egyértelműek, konkrét válaszok nehezen fogalmazhatóak meg.

Az olyan esetekben, amikor az orvostudomány és a zene valamilyen szinten való együttes művelése – legyen az előadó- vagy alkotóművészet – mindig érdekes és érdekfeszítő kérdéseket vet fel: ha egy emberben jelenik meg, tömörödik az orvosi és zenei elhivatottság, az mindig összetett kérdéskört jelent, mind az illető egyén, mind pedig környezete, szakmai kapcsolatai és közönsége irányába egyaránt.<sup>1,3</sup>

Nem véletlen talán, hogy a görög mitológiában Apollón sok más mellett a zene, a művészetek és a gyógyítás istene is egyben. A történelem hosszú évezredei során a zene az emberi lélekre kifejtett általános jótékony hatása révén része volt az életnek minden ismert kultúrában. Számtalan példa ismert a zene különböző hatásának kihasználását illetően. Elég csak a dobok ritmusos, olykor rituális használatára gondolni, vagy éppen a csatákba vonuló katonák „lelkésítésére” használt ütő- és fúvós hangszerek alkalmazására. A különböző hangszerek, hangeffektusok, majd a zenetörténetben később az egyre jobban definiált zenei elemek számos kultúrában részesei voltak szertartásoknak is. Emellett természetesen a mindennapok része: örömeik kísérője, fájdalmak orvossága.

„*Musica laetitiae comes, medicina dolorum*”

#### Orvosok a zenében

Az elmúlt néhány évszázadban számos olyan személy vált ismertté, akik együtt művelték az orvoslást, a tudományt és a zenét. Ifj. Bókay János gyermekgyógyász professzor (1858-1937) a budapesti Kis Akadémia kiadásában 1933-ban megjelent esszékötetében éppen erről a témáról elmélkedett. A kötet címe igen találó és enigmatikus is egyben: „*Az orvosi és zenei kettős képességről és néhány kettős képességű orvosról*”.<sup>1</sup> Hogy miért oly gyakori és intenzív az orvosok zene iránt való érdeklődése, a zene szeretete, vagy egyéni tehetségtől és képességtől vezérelve a zene valamilyen szinten való művelése, arra Bókay az alábbi gondolatot adta, talán általános magyarázatul: „*Tapasztalásból mondhatom, hogy az orvos nehéz foglalkozása között ösztönösen vágyakozik arra,*

<sup>1</sup> Bókay János: *Az orvosi és zenei kettős képességről és néhány kettős képességű orvosról*. Kis Akadémia Könyvtár VIII., Budapest, 1933.

<sup>2</sup> Goldenberg, Saul: *Reflections about parallelism between experimental surgery and music*. Acta Cir. Bras. 2007; 22:330-331.

<sup>3</sup> Hankiss János: *A művészetek és az orvosok kapcsolatrendszere*. Orv. Hetil. 1996;137:306-310.

<sup>4</sup> Németh Norbert: *Microsurgery and music: Parallel ideas and philosophy?* Microsurgery 2007;27:155-157.

<sup>5</sup> Thaut, Michael H.: *The musical brain - An artful biological necessity*. Karger Gazette 2009;70:2-4.

*hogy a nyomasztó realitások elől menekülve, valamilyen lelki megnyugvást, enyhülést leljen, amit legtöbbször meg is talál a művészetnek egyik, vagy másik ágának művelésében. S az egyes ágak közül talán a zene az, amely nehéz napi foglalkozásunk után leginkább üdíti lelkünket.”*<sup>1</sup> Bókay professzor maga is aktív muzsikos és zeneszerző volt.

Ebben a tanulmányban idézi Bókay Alfred Guttmann-t is, aki az orvostudomány és a zene együttes művelőit is több kategóriába osztja úgy, mint (1) zenekedvelő orvosok, akik a legnagyobb táborot képezik, (2) zenét komolyan művelő orvosok, valamint (3) zenész orvosok, akik közül előadóművész orvos-muzsikusként és orvos-zeneszerzőként is definiálhatóak.

Ez a „kategorizálás” talán a mai napig is megállja a helyét, hiszen a zenét komolyan művelő orvosok vonatkozásában elég csak a számtalan kórusra és kamarazenekarra gondolni, amelyeket orvosok hoztak létre, alapvetően a maguk örömeire. Az orvos-muzsikusként sok kiváló szólóista, ének- és hangszeres művész ismert, közülük talán az egyik legismertebb előadóművész, orgonaművész a neves Albert Schweitzer (1875-1965), vagy a jazzműfajban Szabados György, Vukán György. Híres karmesterek közül is ismertek orvos végzettségű nagyságok, mint Lukács Ervin (1928-2011) vagy Giuseppe Sinopoli (1946-2001).

Az orvos-zeneszerzőkre az elmúlt évszázadokban ritkán és sporadikusan ugyan, de találhatunk példákat. Alekszandr P. Borogyin (1833-1887) talán az egyik leghíresebb példa, bár ő inkább a vegyészeti vonatkozásában kapcsolódott az orvostudományhoz. Érdekes megjegyezni, hogy az „Orosz ötök” mindegyike alapfoglalkozását illetően nem volt „hivatásos” zeneszerző (Milij A. Balakirev: matematikai tanulmányokat folytatott, Mogyeszt P. Muszorszkij: kadétiskolát végzett, Alekszandr P. Borogyin: tudós vegyész, Nyikolaj A. Rimszkij-Korszakov: tengerészeti akadémiát végzett, Cezar A. Kjuj: hadmérnök volt).

Kevesen tudják, hogy a híres sebész professzor, Theodor Billroth (1829-1894), aki szoros szellemi barátságot ápolt Johannes Brahms-szal (1833-1897), maga is szenvedélyes muzsikos volt, több hegedűművet is komponált.

Magyar vonatkozásokban Greizinger Ivánt (1862-1899), a sajnos kevésbé ismert orvos-zeneszerzőt is meg kell itt említeni, aki 121 mű szerzője, melyek közül száznál több nyomtatásban is megjelent (köztük 2 mise, egyházi kompozíciók, vonósnégyesek, 30 műdal, hegedűre és zongorára írt darabok, kísérőzene). Megemlékezésre méltó a fiatalon elhunyt Mihalik Kálmán (1886-1922), aki kutatóorvosként, tanársegédként dolgozott, emellett komponált. Nevéhez fűződik a „Székely himnusz” zenéje.

Bókay kötetében és a fenti sorokban is csak néhány példa került említésre a számos orvos-zeneszerző közül, akik példaként hozhatóak fel napjainkig is szerte a világból. Ez a témakör egy külön tanulmány alapját is képezhetné, valamint az is, hogy milyen korszakok és segítő vagy gátló körülmények voltak, amelyek táplálhatták a sokirányú tehetségek kibontakozását és műveik közönséghez jutását, fennmaradását.

Érdekes lehet az a gondolat is, hogy a zene élettani és terápiás vonatkozásai, az azokat előidéző hatások és elemek miként alakíthatóak és építhetők be tudatosan egy-egy kompozícióba. Vajon a nagy zeneszerzők ezt tudatosan vagy „tudat alatti” érzékkel használták? S vajon egy orvos-zeneszerző mennyire használhatja ezeket az elemeket céltudatosan amellett, hogy a zenemű önálló értéke, egysége és együttes esztétikai élménye természetes marad, s nem válik mesterkéltté.

### ***Zene az orvoslásban***

A zene élettani hatásainak és terápiás vonatkozásainak tudományos vizsgálataira napjainkban több országban (pl. USA, Németország) külön intézmények, intézetek jöttek létre,<sup>6</sup> illetve a zeneterápia egyre szélesebb körben való elterjedésével tudományos társaságok, szervezetek alakultak, mutatva, hogy e témakör egyre nagyobb szakmai elfogadottságot élvez.

A zene általános, közismert hatásai közül talán nem igényel tudományos bizonyítást a közérzetjavítás, de a kognitív funkciók javítása kapcsán a megfigyeléseket tanulmányok is megerősítették. Mozart zenéjének jótékony hatását is bizonyították a tanulási teljesítmény, a memória-funkció javításában.<sup>7</sup> Ebben szerepet játszhat a Mozart muzsikájára oly jellemző tónusperiódusok

<sup>6</sup> Altenmüller, Eckart – Kopiez, Reinhard – Grewe, Oliver – Schneider, Sabine – Eschrich, Susann – Frederik Nagel – Jabusch, Hans-Christian: *The Institute for Music Physiology and Musicians' Medicine*. Cogn. Process. 2007;8:201-206.

<sup>7</sup> Jausovec, Norbert – Jausovec, Ksenija – Gerlic, Ivan: *The influence of Mozart's music on brain activity in the process of learning*. Clin. Neurophysiol. 2006;117:2703-2714.

megele, valamint a logikus rendben, és szenális összetettsége ellenére természetes könnyedséggel áramló zenei matéria. Vivaldi zenéjében is a szekvenciaszerű felépítés járulhat hozzá a kognitív funkciók fejlesztéséhez.

Zeneterápiás vonatkozásban számos bizonyított hatás ismert, melyek alapján hatékonyan alkalmazható pszichoszomatikus betegségeken (tinnitus, „burn out”, stressz, fájdalom), pszichiátriai kórképeken (depresszió, schizofrenia), neurológiai (stroke-ot követő rehabilitáció: memória-, beszéd- és motoros funkciók javítása), onkológiai (audioanalgesia, pszichogén tényezők), gyermekgyógyászati (autizmus, migrén, szorongás) és gerontológiai (demencia) vonatkozásokban.<sup>8</sup>

Mindezek általános hatások. Érdekes azonban a zene elemeinek és a zene stílusának alkalmazási lehetőségeit és azok hatásait is figyelembe venni. A zene definiálható elemei a ritmus, a tónus, a tempó, a dallam és a harmónia. Vajon ezeket illetően lehet-e különbséget tenni különböző zeneművek, akár zenei stílusok élettani paraméterekre kifejtett hatásainak vonatkozásaiban?

Bernardi és munkatársai egy szemléletes tanulmányt közöltek néhány évvel ezelőtt, amelyben hatféle stílusú zene hallgatásának légzésszámra és vérnyomásra kifejtett hatását vizsgálták önkéntes résztvevőkön. Az egyes zeneműveknél definiálták a tempót, a tónust, a hangerőt az összehasonlíthatóság és elemzés érdekében. Azt találták, hogy a tempó emelkedésével a légzésszám is fokozatosan emelkedik: egy lassú tempójú klasszikus zenemű (Ludwig van Beethoven, „Adagio molto e cantabile” a IX. szimfóniából) hallgatásával szemben egy gyors tempójú komolyzene (Antonio Vivaldi „Presto” tétele a „Le quattro stagioni”/„L'estate” részből) szignifikáns mértékben megnövekedett légzésszámot eredményezett, míg a vérnyomás nem emelkedett jelentősen. A legnagyobb szisztolés vérnyomás emelkedést a techno zene hallgatása eredményezte, amelynek harmóniastruktúrája konvencionális, melódiaszerkezete rudimentális, ritmikus struktúrája erőteljes obcesszív, folyamatos hangerőszint mellett. A légzésszám emelkedését külön is elemezték zenészek és nem zenészek esetén. Azt találták, hogy a légzésszám emelkedése és a hallgatott zene tempója közötti korreláció zenészek esetében egyértelmű volt ( $r=0,35$ ;  $p<0,001$ ), szemben a nem zenészekkel ( $r=0,15$ ;  $p>0,05$ ).<sup>9</sup>

A percepció és az agyi tevékenységek vonatkozásában a dallam, a tónus, a tempó vagy a ritmus különböző területeket aktivál az agyban. Erre számos tanulmány világított rá, amelyek a zene hallgatása, vagy művelése során vizsgálták az agyi véráramlás mértékét.<sup>10,11,12</sup>

Az egyes agyterületek véráramlás fokozódása az ott lokalizálható agyi tevékenységek aktivitására utal. Kimutatható, hogy a zene összetevői különböző agyi területekben hoznak létre aktivitást, azaz lokális keringésfokozódást, melyek természetesen egymással összefüggő egységes komplex hatást fejtenek ki.<sup>13</sup> Altenmüller professzor, aki ezen a téren meghatározó jelentőségű kutatásokat végez, egy másik nagyon érdekes jelenséget is bizonyított: a zene hatására létrejövő agyterületek aktivitása eltérő zenész és nem zenész önkéntesek vonatkozásában. Kimutatta, hogy zenészekben a zene művelése, mint kifejezési mód aktivizálja a motoros beszédközpontot (Brodmann 44-45 area, Broca terület).<sup>14</sup> Magyarországon e téren Szirmai Imre neurológus professzor munkássága emelhető ki.

### A véráramlás és a zene: kényszerű kifejezésmód a zenében?

Az előzőekben látható volt, hogy a véráramlás általános haemodinamikai jellemzői, illetve a lokális, adott agyterületekre vonatkozó jellemzői összefüggésben lehetnek a zene hatásaival is. A keringés különböző szintjein igen fontos meghatározó tényezők a véráramlástan (haemorheologiai) paraméterek. A haemorheologia a vér sejt és plazmatikus komponensei makroszkópikus és mikroszkópikus dimenziójú áramlástanának, valamint a vérrel kontaktusban lévő érfal rheológiájának összefoglaló megjelölése, amelynek fogalmát Alfred L. Copley (1910-1992) vezette be az 1950-es

<sup>8</sup> Rose, Jens-Peter – Bartsch, Hans Helge: *Music as therapy*. Karger Gazette 2009;70:5-7.

<sup>9</sup> Bernardi, Luciano – Porta, Cesare – Sleight, Peter *Cardiovascular, cerebrovascular, and respiratory changes induced by different types of music in musicians and non-musicians: the importance of silence*. Heart 2006;92:445-452.

<sup>10</sup> Evers, Stefan – Dannert, Jörn – Rödding, Daniel – Rötter, Günther – Ringelstein, E.-Bernd: *The cerebral haemodynamics of music perception. A transcranial Doppler sonography study*. Brain 1999;122:75-85.

<sup>11</sup> Marinoni, Marinella – Grassi, Elena – Latorraca, Stefania – Caruso, Alba – Sorbi, Sandro: *Music and cerebral hemodynamics*. J. Clin. Neurosci. 2000;7:425-428.

<sup>12</sup> Sutoo, Den'etsu – Akiyama, Kayo: *Music improves dopaminergic neurotransmission: demonstration based on the effect of music on blood pressure regulation*. Brain Res. 2004;1016:255-262.

<sup>13</sup> Thaut, Michael H., 2009.

<sup>14</sup> Altenmüller, Eckart: *Apollo's gift and curse: brain plasticity in musicians*. Karger Gazette 2009;70:8-10.



évek elején.<sup>15</sup> Érdekes megjegyezni, hogy orvostudományi munkássága mellett Copley maga is alkotóművész volt: festményei, képzőművészeti alkotásai ismertek.

Ezeknek a haemorheológiai paramétereknek, különösképpen a vörösvérsejtek számának, rugalmasságának (deformabilitás) és összekapcsolódási képességüknek (aggregatio) fontos jelentősége van a kis erekben, a mikrokeringés területén. Óhatatlan a véráramlás, a keringés, a ritmusos, tónusos keringésdinamika, a capillarisok területén változatos mintázatban és eloszlásban áramló vörösvérsejtek áramlása és a zenei folyamat, a zene párhuzama. Erről egy külön esszében gyűlt össze néhány gondolat, amelyek a haemorheologia, a véráramlás és a zene, s egyes zeneművek kapcsolatát elemzik részletesen.<sup>16</sup>

A zene alkotóelemei közül a ritmus, a tónus és a tempó az előző példákából is láthatóan alapvetően a keringés és légzésdinamikára is jól definiálható hatással van, míg a dallam és a harmónia az emóciók, asszociációk tekintetében fejt ki domináns hatást. Ezek együtt egy komplex pszichoszomatikus hatásként, összetett élményként valósulnak meg a zenemű hallgatásakor az azt befogadó hallgatóban.

Vajon mennyire lehet tudatos egy zeneszerzőben, hogy bizonyos elemeket célzottan alkalmazzon egyes élettani hatások elérése, vagy éppen azok kifejezése, megjelenítése érdekében? Lehet-e képszerű zenei kifejezőmódot találni zeneművekben, amelyek a véráramlás kifejezésére annak normális, vagy éppen patológiás megjelenési formáira utalnak? Néhány szubjektív módon válogatott példaként több szempont merülhet fel e gondolatkör vonatkozásában.

Az áramlás és a folyamatosság, és így a keringő, áramló vér, az élet kontinuitása kapcsán a zenéből alapvetően a víz ábrázolások szolgálhatnak ismert példaként: folyóábrázolásokként Richard Wagner (1813-1883) „A Rajna kincse” bevezető 132 üteme, vagy Bedrich Smetana (1824-1884) „Moldva” című szimfonikus művének kifejező részei. A ritmus és a tempó kapcsán a felfokozott keringésdinamika, a hevesen verő szív egyértelműen felismerhető ritmikája hallható ki Giuseppe Verdi (1813-1901) számos operájának jeleneteiben („Il trovatore” II. felvonásában Azucena és Manrico jelente, a IV. felvonásban Leonora és Manrico jelenete; továbbá a „La traviata”, a „La forza del destino” vagy a „Luisa Miller” zárójelenetei). De itt említhető Bartók Béla „A csodálatos mandarin” című műve, ahol az arrythmiás, szapora szívverés érződik ki világosan a zenéből, amely a vérző mandarin haláláig fokozódik.

A vérzés impressziója is megjelenik zeneművekben, amelyre jó példa Giacomo Puccini „Tosca” című operája II. felvonásának vége, ahol Scarpia haldoklása és halála szinte realisztikus ábrázolása a vérzéses sokknak, ahol szintén a felfokozott ritmus, a ziháló, szabálytalan légzés és keringés dinamikájára utaló zenei kifejezőmód jelenik meg, s ahol egy-egy akkorddal Puccini szinte láttatja a vért, miközben Tosca ijedt borzongással, ám elszánt heveséssel kántálja a haldokló Scarpiára szavait.

A vér szimbolikus megjelenítésére is hozhatóak példák. Képszerű zenei kifejezőmódként láttatja Bartók a megnyíló kínzókamra ajtaja mögött feltáruló látvány részeként a vért: éles kis-szekund disszonanciáival „A kékszakállú herceg vára” című operájában. A vér hidegségében, iszonyában, vagy forró szenvedélyében, vagy vadságában való szimbolikus zenei megjelenítése képződik le Verdi „Macbeth”, Puccini „Turandot”, Szokolay Sándor „Vérnász”, vagy Richard Strauss (1864-1949) „Salome” és „Elektra” című operáiban egy-egy hatásos akkordszínezettel, ritmikai fordulatokkal, kifejező hangszereléssel.

Lehet tehát összefüggés a zene és a véráramlás között, s kapcsolat a zenei kifejezőmód és a vérkeringés vonatkozásában.

## Kadencia

Az orvoslás mellett maga a tudományos kutatás és a zeneszerzés kapcsolata is számos közös pontban érintkezhet egymással: a miértekre való válaszkérés, a megismerésre vágyás mindkettőben

<sup>15</sup> Copley, Alfred Levin: *The history of Clinical Hemorheology*. Clin. Hemorheol. 1985;5:765-811.

<sup>16</sup> Németh Norbert: *Blood stream in the art: Thoughts on music and hemorheology*. Clin. Hemorheol. Microcirc. 2009;41:221-227.

közös, a módszertan, az elemző munka, az eredmények felismerése és megértése, rendszerezése, egységes prezentációja és megjelenítése mintegy párhuzam lehet egy zenemű megalkotási folyamatának is, s amelyekben minden kimondott szónak, leírt eredménynek és következtetésnek, és minden kottapapírra írt, majd megszólaló hangjegynek, hangnak súlya, felelőssége és jelentősége van.

Az esszé elején felvázolt kérdésfelvetés és válaszkeresés egy állandó, helyzeteket, példákat, válaszokat, újabb és újabb műveket, művészi alkotásokat, élményeket elemző és ezeket igénylő folyamat: állandó áramlás a zenében, a vérkeringés kontinuitása, s egyben zeneisége az örök körforgásban... a „*panta rhei*”.

Talán ez a folyamatosság, s a folyamat maga, ami új eredményeket, új alkotásokat, új gondolatokat szül, s talán ez az, ami állandó motiváló tényezőként is hat mind a kutatómunkában, mind a művészi alkotómunkában egyaránt.

*„Utad értelme nem a cél, hanem a vándorlás. Nem helyzetekben élsz, hanem út közben”*  
(Márai Sándor, Füves könyv)

Az *Addendum* alapjául szolgáló közlemények:

- Németh N. Microsurgery and music: parallel ideas and philosophy? *Microsurgery* 2007;27:155-157.
- Németh N. Blood stream in the art: thoughts on music and hemorheology. *Clin Hemorheol Microcirc* 2009;41:221-227.
- Németh N. Gondolatok a zene és az orvostudomány kapcsolatáról: Vérkeringés és a képszerű zenei kifejezőmód. *Danubius Noster* 2013;2:115-123.